Aus dem Institut für Neuropsychopharmakologie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Helmut Coper

DER EINFLUSS VON DIPHENYLHYDANTOIN UND CARBAMAZEPIN AUF IHRE EIGENE UND GEGENSEITIGE ELIMINATION AUS DEM PLASMA DER RATTE UND DIE WIRKUNG VON CARBAMAZEPIN AUF DIE SERUMKONZENTRATION VON DIPHENYLHYDANTOIN BEI EPILEPTIKERN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ursula von Herrath geb. Klemp
aus Neuenkirchen

1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552710_0028

Aus dem Institut für Neuropsychopharmakologie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. Helmut Coper

DER EINFLUSS VON DIPHENYLHYDANTOIN UND CARBAMAZEPIN AUF IHRE EIGENE UND GEGENSEITIGE ELIMINATION AUS DEM PLASMA DER RATTE UND DIE WIRKUNG VON CARBAMAZEPIN AUF DIE SERUMKONZENTRATION VON DIPHENYLHYDANTOIN BEI EPILEPTIKERN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ursula von Herrath geb. Klemp
aus Neuenkirchen

Referent: Prof. Dr. med. Helmut C o p e r

Korreferent: Prof. Dr. med. Norbert R i e t b r o c k

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 26. Juli 1973

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
EINLEITUNG		5
METHODIK		8
1.	Material	8
2.	Tierexperimente	9
2.1.	Akutversuche	9
2.1.1.	Bestimmung der Halbwertzeit von DPH und Carbamazepin in Abhängigkeit von der Dosis	9
2.1.2.	Untersuchung über die gegenseitige Beeinflussung der Halbwertzeiten	10
2.2.	Subchronische Versuche	10
2.2.1.	Bestimmung der Halbwertzeit von 50 mg/kg DPH und 50 mg/kg Carbamazepin nach 10tägiger Vorbehandlung	10
3.	Untersuchungen bei Patienten	10
4.	Aufbereitung des Blutes für die chemischen Bestimmungsmethoden	11
5.	Chemische Bestimmungsmethoden	11
5.1.	Reagenzien	11
5.2.	Bestimmung von DPH	12
5.3.	Kritik der DPH-Methode	15
5.4.	Bestimmung von Carbamazepin	18
6.	Statistische Auswertung	23
ERGEBNISSE		26
1.	Tierversuche	26

Seite

1.1. Bestimmung der Halbwertzeit von DPH und Carbamazepin im Plasma von Ratten in Abhängigkeit von der applizierten Dosis 26

1.2. Bestimmung der Halbwertzeit von DPH in Kombination mit Carbamazepin bzw. von Carbamazepin in Kombination mit DPH 31

1.2.1. Akutversuche 31

1.2.2. Subchronische Versuche 35

1.2.2.1. Bestimmung der Halbwertzeit von DPH und Carbamazepin nach 10tägiger Vorbehandlung mit den Einzelsubstanzen 35

1.2.2.2. Bestimmung der Halbwertzeit von DPH in Kombination mit Carbamazepin bzw. von Carbamazepin in Kombination mit DPH nach subchronischer Applikation 39

2. Untersuchungen bei Patienten 40

DISKUSSION 48

1. Dosisabhängigkeit der Halbwertzeit 48

2. Verlängerung der Halbwertzeit von DPH bei gleichzeitiger Gabe von Carbamazepin 49

ZUSAMMENFASSUNG 53

TABELLEN 55

LITERATURVERZEICHNIS 60

EINLEITUNG

Diphenylhydantoin (DPH) wurde im Jahr 1938 von MERRIT und PUTNAM in die Therapie des Grand mal eingeführt und gehört auch heute noch zu den wirksamsten Antikonvulsiva. Die Pharmakokinetik der Substanz ist bei Mensch und Tier vielfach untersucht und im Prinzip gut bekannt. DPH wird nach oraler Gabe überwiegend im distalen Duodenum (WOODBURY 1969) langsam resorbiert. Die maximale Blutkonzentration wird erst nach 6-8 Std. erreicht (DILL et al. 1956). Das Verteilungsmuster in den verschiedenen Geweben ist abhängig von der Zeit und der Applikationsart. Nach oraler Gabe finden sich die höchsten Konzentrationen in der Leber und im Fettgewebe (DILL et al. 1956), nach intravenöser Injektion in der Leber und der Niere (NOACH et al. 1958). Die Plasmaeiweißbindung wird mit 64-93 % angegeben (DAYTON et al. 1967, LOESER 1961, KRISTENSEN et al. 1969, HANSEN et al. 1971 b, LUND et al. 1972). Über deren Festigkeit ist jedoch nur wenig bekannt. Die Zeit, nach der die Konzentration von DPH im Plasma auf die Hälfte absinkt (HWZ), ist beim Menschen relativ lang und mit 6,6 bis 42 Std. individuell recht unterschiedlich (DILL et al. 1956, GLAZKO et al. 1969, ARNOLD und GERBER 1970, KRISTENSEN et al. 1969).

Carbamazepin wird seit 1963 zur Therapie der Temporallappenepilepsie und des Grand mal verwendet. Bisher sind vorwiegend Arbeiten über klinische, pharmakologische und toxikologische Wirkungen der Verbindung veröffentlicht worden (THEOBALD und KUNZ 1963, STENGER und ROULET 1964, HAJNSEK und SARTORIUS 1964, FÜHR 1964, DOLCE 1969).

Erst in letzter Zeit wurden genauere Angaben über die intestinale Resorption, die Verteilung und den Metabolismus von Carbamazepin veröffentlicht (WEIST und ZICHA 1967, MORSELLI et al. 1971, BEYER et al. 1971, GOENECHEA und HECKE-SEIBICKE 1972). Die Substanz wird wie DPH langsam resorbiert und erreicht nach 4-6 Std. die höchste Plasmakonzentration. Über die Bestimmung der HWZ liegen noch keine Untersuchungen vor.

Die Beeinflussung der Kinetik eines Arzneimittels durch gleichzeitige Gabe eines anderen Medikaments ist zu einem wichtigen Problem der Therapie mit Kombinationspräparaten oder einer Mehrfachmedikation geworden, welches auch bei der Behandlung von Epileptikern von Bedeutung ist. Prinzipiell kann eine individuelle, nicht starr konfektionierte Kombination mehrerer Antiepileptika sinnvoll und notwendig sein (COPER und SELBACH 1970). Gleichzeitig sind dabei jedoch die möglichen gegenseitigen Beeinflussungen und die durch andere Medikamente zu berücksichtigen. Durch die Arbeiten von KUTT et al. (1966) ist schon seit langem bekannt, daß Isonicotinsäurehydrazid (INH) den Abbau von DPH hemmt. KATO und VASSANELLI entdeckten 1962 bei Ratten nach Vorbehandlung mit Phenobarbital (PB), Meprobamat oder DPH einen beschleunigten Metabolismus von Meprobamat. Inzwischen sind ähnliche Beobachtungen mit vielen Pharmaka gemacht worden; u.a. hemmen Chloramphenicol (CHRISTENSEN und SKOVSTED 1969), Methylphenidat (GARRETSON et al. 1969), Dicoumarol (HANSEN et al. 1966), Sulthiame (HANSEN et al. 1968), Disulfiram (KIØRBOE 1966, OLESEN 1966), Phenyramidol (SOLOMON und SCHROGIE 1967) und PB (KUTT et al. 1969) den Abbau von DPH,

während umgekehrt DPH eine Erniedrigung der Plasmaspiegel von Dicoumarol (HANSEN et al. 1971 a), Digitoxin (SOLOMON et al. 1971), Dexamethason (JUBIZ et al. 1970), Cortisol (WERK et al. 1964), Thyroxin (LARSEN et al. 1970) und Metyrapon (SZEBERENYI et al. 1969) bewirkt. Diese Untersuchungen machen deutlich, daß vor einer Verordnung mehrerer Substanzen bei dem gleichen Patienten die Frage der metabolischen Interaktion überlegt und eventuell nachgeprüft werden muß.

In der vorliegenden Arbeit wurde zunächst an Ratten der Frage nachgegangen, ob sich die HWZ von DPH im Plasma durch zusätzliche Applikation von Carbamazepin ändert, bzw. ob umgekehrt die HWZ von Carbamazepin durch DPH beeinflußt wird. Die Ergebnisse sind dann an fünf Patienten überprüft worden.

Es wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

1. Bestimmung der HWZ von DPH und Carbamazepin im Plasma von Ratten nach getrennter Gabe in Abhängigkeit von der applizierten Dosis.
   Diese Vorversuche waren notwendig, nachdem DAYTON et al. (1967) und GERBER et al. (1971) mitgeteilt haben, daß die Eliminationsgeschwindigkeit zumindest von DPH dosisabhängig ist.

2. Bestimmung der HWZ von DPH in Kombination mit Carbamazepin bzw. von Carbamazepin in Kombination mit DPH.
   Die Experimente wurden sowohl im Akutversuch als auch nach 10tägiger Vorbehandlung mit den Einzelsubstanzen durchgeführt.

METHODIK

1. Material

1.1. Tiermaterial

Die Versuche wurden an 120-290 g schweren männlichen Wistar-Ratten durchgeführt (Tierzuchtfarm Hoffmann, Berlin). Die Tiere erhielten peletiertes Trockenfutter "Altromin R 10" (Firma Altrogge, Lage-Lippe) und Leitungswasser ad libitum.

1.2. Versuchspersonen

Versuchspersonen waren nicht-ausgewählte männliche und weibliche Patienten der Neurologischen und Psychiatrischen Klinik der Freien Universität Berlin.

1.3. Versuchssubstanzen

1.3.1. 5-Carbamyl-5H-dibenzo [b,f] azepin (Tegretal^{R} -Reinsubstanz), Geigy, Basel.

1.3.2. Tegretal^{R} -Tabletten

1.3.3. Diphenylhydantoin-Na (Epanutin^{R} -Trockenampullen), Parke-Davis, München.

1.3.4. Diphenylhydantoin-Na (Zentropil^{R} -Tabletten)

Carbamazepin, mit einem Schmelzpunkt von 193-196°C, wurde für die Tierversuche in Rapsöl bzw. in Erdnußöl unter Erwärmen gelöst. Als Lösungsmittel für Epanutin diente aqua dest.. Die Lösung hatte einen pH-Wert um 11.
Die Substanzen wurden den Tieren i.p., den Patienten in handelsüblichen Tabletten verabreicht.

2. Tierexperimente

2.1. Akutversuche

Im Akutversuch wurden den Ratten die Substanzen (100 mg/kg DPH bzw. 40, 60, 75 und 100 mg/kg Carbamazepin) in 1 ml/100 g Körpergewicht (KG), in der Serie 50 mg/kg Carbamazepin bzw. 40, 50 und 75 mg/kg DPH in 0,5 ml/100 g KG Lösungsvermittler injiziert. Die Kontrolltiere bekamen entsprechende Mengen $NaHCO_3$-Puffer, pH 11 oder Öl.

2.1.1. Bestimmung der HWZ von DPH und Carbamazepin in Abhängigkeit von der Dosis

Bei DPH wurden Plasmakonzentrationen bestimmt 1, 2 und 3 Std. nach 40 mg/kg; 1, 2, 3 und 4 Std. nach 50 mg/kg; 1, 3, 5 und 6 Std. nach 75 mg/kg; 1, 2, 4, 8 und 16 Std. nach 100 mg/kg.
Bei Carbamazepin erfolgten Konzentrationsbestimmungen 1, 2 und 3 Std. nach 40 mg/kg; 1, 2, 3 und 4 Std. nach 50 mg/kg; 1, 3 und 5 Std. nach 60 mg/kg; 1, 3 und 5 Std.

nach 75 mg/kg; 1, 2, 4 und 8 Std. nach 100 mg/kg.

2.1.2. Untersuchung über die gegenseitige Beeinflussung der Halbwertzeiten

Bei DPH wurden Konzentrationsbestimmungen 2, 4, 5 und 8 Std., bei Carbamazepin 2, 3, 4 und 6 Std. nach je 50 mg/kg DPH und Carbamazepin vorgenommen.

2.2. Die Ratten erhielten 10 Tage lang 10 mg/kg DPH in 0,25 ml a.d./100 g KG und/oder 15 mg/kg Carbamazepin in 0,5 ml Öl/100 g KG, die Kontrolltiere entsprechend 0,25 ml $NaHCO_3$-Puffer pH 11 bzw. 0,5 ml Öl pro 100 g KG.

2.2.1. Bestimmung der HWZ von 50 mg/kg DPH und 50 mg/kg Carbamazepin nach 10tägiger Vorbehandlung

Bei DPH erfolgten Konzentrationsbestimmungen am 11. Tag 1, 3, 4 und 5 Std. nach Vorbehandlung mit DPH, sowie 1, 2, 3, 4 und 6 Std. nach Vorbehandlung mit Carbamazepin bzw. 2, 3, 4 und 6 Std. nach Vorbehandlung mit DPH und Carbamazepin.

Bei Carbamazepin wurden die Konzentrationen am 11. Tag 2, 3 und 4 Std. nach Vorbehandlung mit Carbamazepin und 1, 2 und 4 Std. nach Vorbehandlung mit DPH bestimmt.

3. Untersuchungen bei Patienten

Die Patienten bekamen orale Gaben von DPH und Carbama-

zepin. Bei dem Patienten K.-D. L., der seine Tabletten in einer Einzeldosis um 8^{00} Uhr morgens einnahm, wurde jeweils um 12^{00} Uhr Blut abgenommen. Allen anderen Patienten wurden die Tabletten in 3 bis 4 Einzeldosen verabreicht. Bei ihnen erfolgten die Blutentnahmen um 8^{00} Uhr, d.h. 9 bis 11 Std. nach der letzten Einzeldosis.

4. Aufbereitung des Blutes für die chemischen Bestimmungsmethoden

Die Ratten wurden nach den angegebenen zeitlichen Intervallen p.i. dekapitiert, das Blut in heparinisierten Röhrchen aufgefangen, 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert und das Plasma abpipettiert. Das Patientenblut wurde in nicht-heparinisierten Röhrchen aufgefangen, zentrifugiert und das Serum entweder sofort verarbeitet oder tiefgefroren.

5. Chemische Bestimmungsmethoden

5.1. Reagenzien

a) Chloroform-Aethanol-Gemisch 100 : 1 (Volumen/Volumen). Zur Reinigung wurden 1000 ml Chloroform reinst MERCK je einmal mit 50 ml konz. H_2SO_4 und 50 ml H_2O geschüttelt, danach über $CaCl_2$ getrocknet und bei $60^{\circ}C$ destilliert.

b) Phosphatpuffer pH 6,8 m/2

α) 68 g KH_2PO_4 ad 1000 ml H_2O

ß) 89 g Na_2HPO_4 ad 1000 ml H_2O

508 ml Lösung α)
+ 492 ml Lösung ß)
1000 ml m/2 Phosphatpuffer

Einstellung mit 10 n NaOH auf ph 6,8

c) Natriumchlorid krist.

d) Bikarbonatpuffer pH 11 m/10

8,402 g $NaHCO_3$ ad 1000 ml H_2O, mit 10 n NaOH auf pH 11 eingestellt

e) destilliertes 1,2-Dichloraethan

1,2-Dichloraethan reinst MERCK wurde jeweils 10 min lang mit 1/5 Vol. 1 n NaOH, 1/5 Vol. 1 n HCl und dreimal mit 1/5 Vol. H_2O geschüttelt, danach über $CaCl_2$ getrocknet und bei 83°C destilliert.

f) Natriumnitrit, 3 %ige wässrige Lösung

g) 1 Vol. konz. HNO_3 verdünnt mit 2 Vol. H_2O

h) Natriumsulfat, wasserfrei

5.2. Bestimmung von DPH

DPH ist eine gut lipoidlösliche Substanz, die bei Titration in Methanol einen pK-Wert von 9,2 besitzt (DILL et al. 1956). Durch längeres Schütteln mit orga-

nischen Lösungsmitteln läßt es sich aus der wässrigen Phase des Serums in Abhängigkeit vom pH-Wert z.B. in Chloroform überführen. Zusätzlich werden aus dem Serum auch Bestandteile mitextrahiert, die sich ähnlich wie DPH verhalten und eine direkte quantitative spektrophotometrische Messung von DPH nicht zulassen. Um das Ausmaß des Fehlers zu verringern, wird DPH wieder in eine wässrige Phase zurückgeführt. Da aber nur das dissoziierte DPH-Molekül wasserlöslich ist, ist es notwendig, die Extraktion aus dem Chloroform mit stark alkalischem Puffer (Bikarbonatpuffer pH 11) vorzunehmen. Anschließend kann die Konzentration von DPH direkt in einem Spektrophotometer aus der Differenz der Extinktionen Δ E bei 235 und 260 nm an Hand einer Eichreihe bestimmt werden. Aus Δ E läßt sich dann der Gehalt an DPH/ml Serum errechnen (REMMER et al. 1969).

Im einzelnen werden 3 ml Plasma bzw. Serum, 0,3 ml Phosphatpuffer und 250 mg NaCl in 50 ml-Schliffzentrifugengläser gegeben und 25 ml Chloroform aus einer automatischen Bürette hinzupipettiert. Das Gemisch wird 45 min in einer Schüttelmaschine bei langsamer Geschwindigkeit (40 U/min) geschüttelt und anschließend in einer Labortischzentrifuge (Firma ECCO, Typ E II, 10) bei 3000 U/min 10 min lang zentrifugiert. Nach Absaugen des wässrigen Überstandes werden 20 ml der Chloroformphase in 50 ml-Schliffzentrifugengläser übertragen und 3 ml $NaHCO_3$-Puffer pH 11 hinzupipettiert. Das Gemisch wird 15 min bei 40 U/min geschüttelt und 5 min bei 3000 U/min

zentrifugiert. Von der Pufferphase werden 2,5 ml abgehoben und deren Extinktionsdifferenz im Spektralphotometer (ZEISS PQM II) bei den Wellenlängen 235 nm und 260 nm gegen $NaHCO_3$-Puffer in einer Küvette von 1 cm Schichtdicke gemessen. Bei jeder Messung wurde ein Plasmaleerwert von Kontrollratten mitbestimmt und vom Meßwert abgezogen. Zur weiteren Kontrolle wurde bei jedem Untersuchungsgang gleichzeitig ein Eichwert von 25 γ DPH/ml im Kontrollplasma bzw. -serum mitextrahiert. In 40 Versuchen lag der Mittelwert der Extinktionsdifferenzen ΔE bei 184 ± 18.

Auf Grund papierchromatographischer Untersuchungen fanden KUTT et al. (1964 b), daß DPH und einer seiner Metaboliten, freies, d.h. nicht-konjugiertes 5-para-Hydroxyphenyl-5-phenylhydantoin (p-HPPH), in Chloroform bei annähernd neutralem pH zum großen Teil löslich sind, während sein Hauptmetabolit, konjugiertes p-HPPH, bei neutralem pH mit Chloroform nicht extrahiert wird. Da aber nach den Ergebnissen von KUTT et al. (1964 b) im Blut nur sehr wenig freies und konjugiertes p-HPPH vorhanden sind, stellen die mit der Methode von DILL et al. (1956) gefundenen Konzentrationen nichtmetabolisiertes DPH dar.

Zur Untersuchung des mit der Methode von REMMER et al.

(1969) extrahierten Materials wurden im BECKMANN DK_2 folgende Spektren von 360 nm bis 210 nm gegen $NaHCO_3$-Puffer geschrieben:

1. DPH-Reinsubstanz, gelöst in $NaHCO_3$-Puffer
2. extrahiertes Plasma von Ratten, denen DPH i.p. injiziert worden war
3. extrahiertes Patientenserum

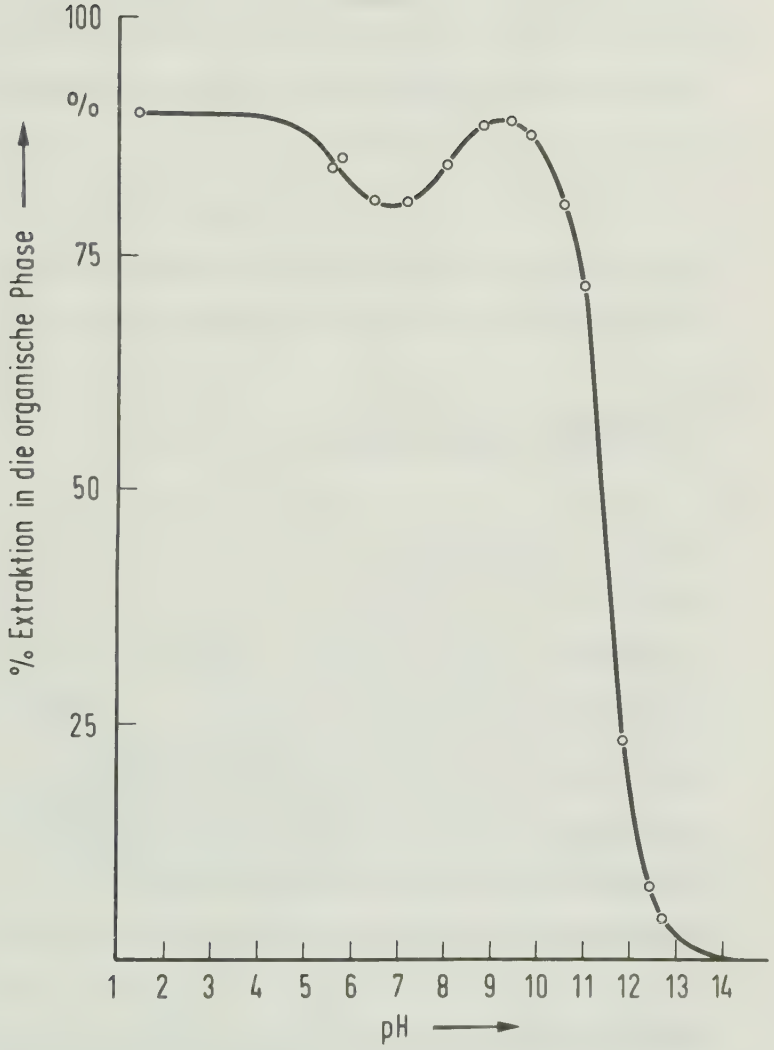
Da alle Ansätze einen Peak bei der gemessenen Wellenlänge 235 nm aufwiesen, ist zu schließen, daß mit der von REMMER et al. (1969) angegebenen Methode nur unverändertes DPH bestimmt wird.

5.3. Kritik der DPH-Methode

Die von REMMER et al. (1969) angegebene spektrophotometrische Bestimmung von DPH ist eine Modifizierung der Methode von SVENSMARK et al. (1960), die die Verfahren von DILL et al. (1956) und PLAA und HINE (1956) kombinierten. Während DILL et al. für die Extraktion von DPH aus Chloroform in die alkalische Phase 1 n

NaOH (pH 13-14) verwandten, extrahierten SVENSMARK et al. mit einem Bikarbonat-Puffer vom pH 11. Die Dissoziation von DPH im Plasma beginnt, wie die Abb. 1 zeigt, unter den gewählten Bedingungen bei pH 10 und ist bei pH 13,5 beendet. Bei pH 11,3 sind ungefähr 50 % des DPH undissoziiert (pK-Wert). Vorausgesetzt, die Extraktion von DPH aus Chloroform in den Puffer ist ebenso pH-abhängig und der pK-Wert der Substanz liegt unter diesen Bedingungen auch bei pH 11, so kann bei Verwendung eines Puffers mit dem pH-Wert 11 nur ungefähr die Hälfte des in Chloroform gelösten DPH als dissoziiertes Molekül in die alkalisch-wässrige Phase übergehen. Der pH-Wert des Bikarbonatpuffers (pH 11) reicht also für eine quantitative Extraktion aus dem Chloroform nicht aus. Ein weiterer Hinweis auf die unzureichende Alkalisierung bei dem zweiten Extraktionsschritt ist die relative Wiederfindung, die im Bereich von 10 bis 30 γ/ml DPH zwischen 63 und 68 % liegt.

Der Versuch einer Extraktion des Chloroform mit 1 n NaOH scheitert jedoch daran, daß bei diesem pH offensichtlich nicht nur DPH in die alkalische



pH Abhängigkeit der Extraktion von DPH aus einer wässrigen Plasmalösung mit Chloroform

Abb. 1

Phase übergeht und dadurch die Extinktion ohne einen Peak bei 235 nm in diesem Bereich stark ansteigt, so daß keine Extinktionsdifferenz gemessen werden kann.

Trotz der aufgezeigten Nachteile kann die Methode jedoch als ausreichend angesehen werden, da bei jeder Bestimmung ein Eichwert mitextrahiert und der Bikarbonatpuffer in kurzen Abständen erneuert wurde.

5.4. Bestimmung von Carbamazepin

Die Bestimmung erfolgte nach einer von NIELSEN und REMMER (1969) angegebenen Methode. Dabei wird Carbamazepin bei annähernd neutralem pH aus dem Plasma mit 1,2-Dichloraethan extrahiert. Nach Abdampfen des Lösungsmittels entsteht aus der Substanz durch Inkubation mit einem Gemisch aus Natriumnitrit und Salpetersäure eine gelbgefärbte Verbindung, die wiederum mit 1,2-Dichloraethan extrahiert wird. Die Intensität der Farbe wird im Spektralphotometer bei 400 nm gemessen.

Im einzelnen werden 3 ml Plasma, 5 ml H_2O und 10 ml 1,2-

Dichloraethan in 50 ml-Schliffzentrifugengläser gegeben. Das Gemisch wird 30 min lang bei 40 U/min geschüttelt und 5 min bei 3000 U/min in einer Labortischzentrifuge zentrifugiert. Nach Absaugen des wässrigen Überstandes wird die organische Phase durch ein Falten-Filter filtriert. 6 ml des Filtrats werden in 10 ml-Schliffzentrifugengläser übertragen und mit einem Rotavapor (Firma BÜCHI, Basel) bei einer Wassertemperatur von 76°C zur Trockene eingedampft. Nach dem Abkühlen werden 2 ml 3 %ige $NaNO_2$-Lösung und 3 ml verdünnte HNO_3 hinzupipettiert. Dieser Ansatz wird 15 min lang in einem Wasserbad von 50°C erwärmt. Dabei entsteht eine gelbgefärbte Verbindung. Nach Zusatz von 7 ml 1,2-Dichloraethan wird 7 min lang bei 3000 U/min zentrifugiert. Der wässrige Überstand wird verworfen. Zu der organischen Phase wird eine Spatelspitze wasserfreies Na_2SO_4 gegeben, das Gemisch ca. 2 min bei 40 U/min geschüttelt und 5 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Der nun wasserfreie Überstand wird abpipettiert und die Extinktion der gelben Verbindung spektrophotometrisch bei 400 nm in einer Küvette von 1 cm Schichtdicke gegen 1,2-Dichloraethan gemessen.

In 40 Versuchen lag der Mittelwert der gleichzeitig extrahierten Eichwerte von 33,3 γ/ml bei E 708 ± 57. Die relative Wiederfindung im Bereich von 5 bis 30 γ/ml Carbamazepin beträgt 70 bis 73 %.

Vergleiche der Spektren von extrahiertem Rattenplasma nach Carbamazepin i.p. und extrahiertem Plasma von Kon-

trollratten, dem gelöste Carbamazepin-Reinsubstanz zugesetzt war, aufgenommen im BECKMANN DK_2 von 220 nm bis 550 nm, ergaben identische Peaks bei 400 nm. Durch diese Bestimmung wird also nur unverändertes Carbamazepin erfaßt.

Zur quantitativen Bestimmung des DPH bzw. Carbamazepins dienten als Bezugssystem Eichkurven, die aus bekannten, dem Serum oder Plasma zugesetzten DPH- oder Carbamazepinmengen unter den gleichen Extraktionsbedingungen erhalten wurden (Abb. 2 und 3). Die im Serum oder Plasma gefundenen DPH- und Carbamazepinmengen wurden auf γ/ml umgerechnet.

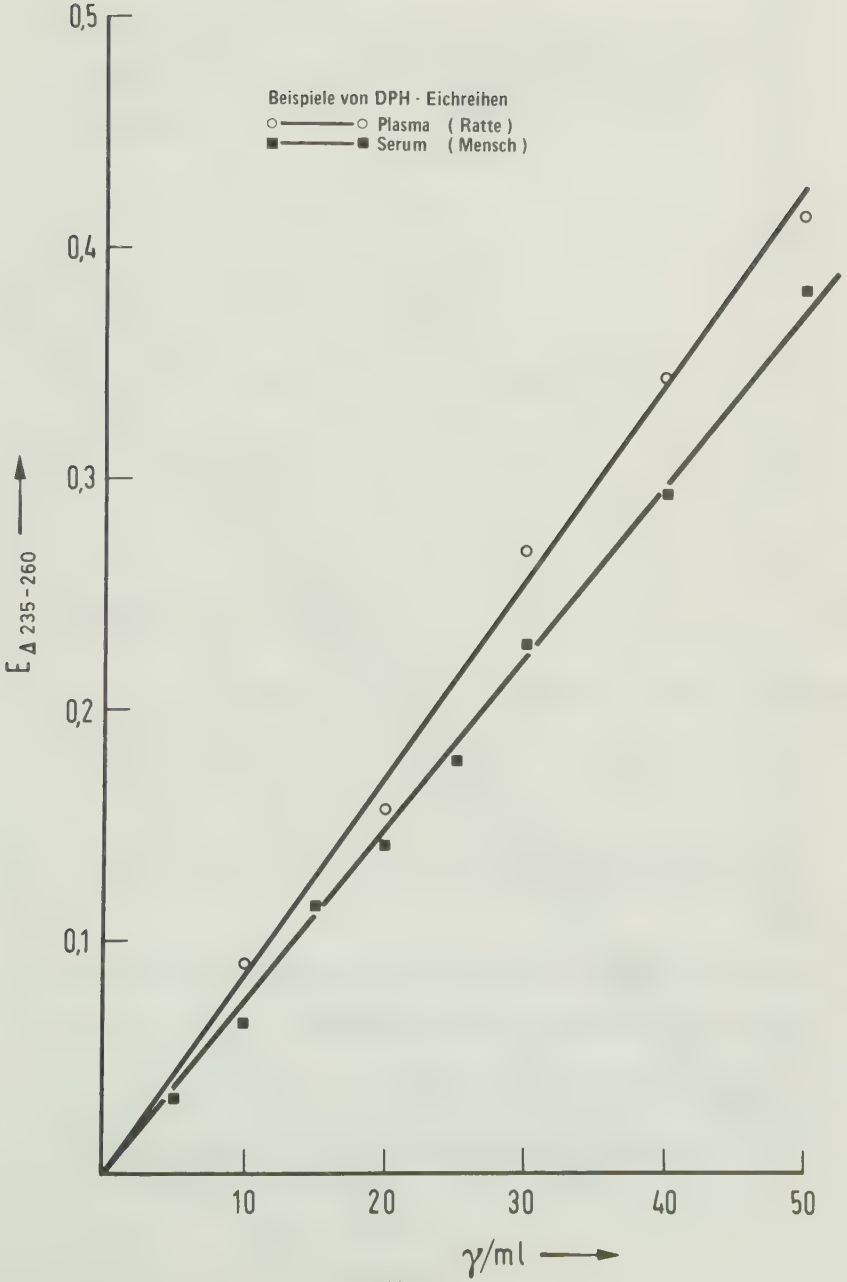

Beispiele von DPH - Eichreihen
Plasma (Ratte)
Serum (Mensch)
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
E Δ 235-260
10
20
30
40
50
γ/ml

Abb. 2

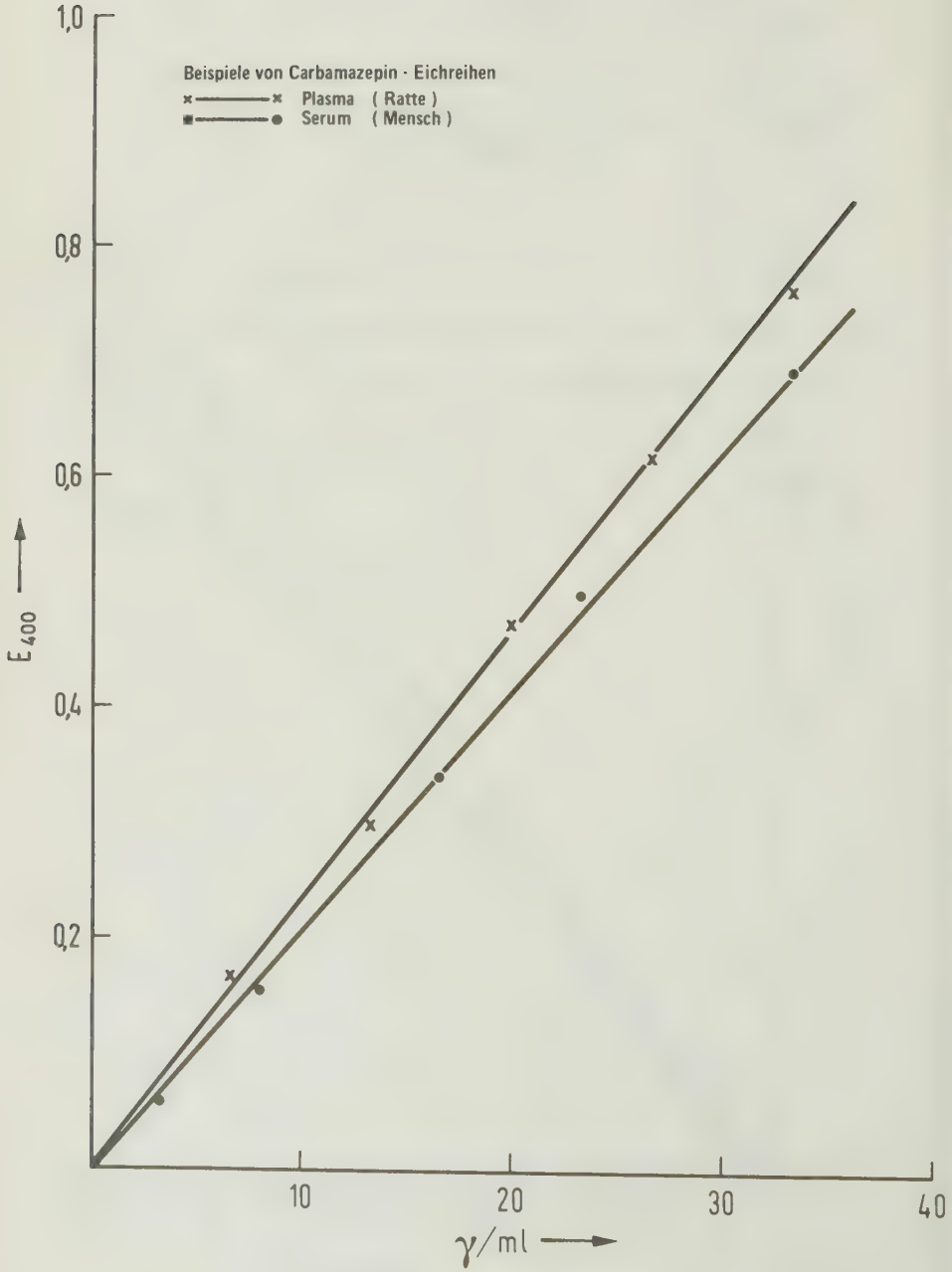

Beispiele von Carbamazepin - Eichreihen
Plasma (Ratte)
Serum (Mensch)
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
E 400
10
20
30
40
γ/ml

Abb. 3

6. Statistische Auswertung

6.1. Die Darstellung der Meßergebnisse erfolgte durch den Mittelwert $\bar{x}$ und die Standardabweichung s der Einzelwerte

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N}$$

$$s = \sqrt{\frac{SAQ}{N-1}}$$

mit $$SAQ = \sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{N}$$

x_i = Einzelwerte

N = Anzahl der Glieder

6.2. Signifikanzberechnung

Da die Voraussetzung für den t-Test nach Student gegeben war, wurde für die Meßreihen A und B t in zweiseitiger Fragestellung nach folgender Formel berechnet:

$$t = \left| \bar{x}_A - \bar{x}_B \right| \cdot \sqrt{\frac{N_A \cdot N_B \cdot (N_A + N_B - 2)}{(N_A + N_B) \cdot (SAQ_A + SAQ_B)}}$$

Der zu den berechneten t-Werten gehörende 2p-Wert wurde aus der in den WISSENSCHAFTLICHEN TABELLEN (DOKUMENTA GEIGY) befindlichen t-Tafel entnommen. Es wurden signifikante Unterschiede zwischen zwei Meßreihen angenommen, wenn die Wahrscheinlichkeit $2p < 0{,}0027$ war.

6.3. Die Berechnung der Regressionsgeraden aus den Wertepaaren (x_i/y_i) wurde nach folgender Formel durchgeführt:

Steigung $$b_x = \frac{S_{xy}}{SAQ_x}$$

mit $$S_{xy} = \sum x_i \cdot y_i - \frac{\sum x_i \cdot \sum y_i}{N}$$

Achsenabschnitt $$a_x = \bar{y} - b_x \cdot \bar{x}$$

Korrelationskoeffizient $$r_{xy} = \frac{S_{yx}}{\sqrt{SAQ_x \cdot SAQ_y}}$$

6.4. Zur Prüfung, ob die Steigungen zweier Regressionsgeraden $y_1 = f(x_1)$ und $y_2 = f(x_2)$ signifikant verschieden sind, wurde der t-Test herangezogen; t wurde nach folgender Formel berechnet:

$$t = (b_1 - b_2) \left[\frac{S_1 + S_2}{N_1 + N_2 - 4} \left(\frac{1}{SAQ_{x_1}} + \frac{1}{SAQ_{x_2}} \right) \right]^{-\frac{1}{2}}$$

mit $$S_1 = SAQ_{y_1} - \frac{S_{yx_1}^2}{SAQ_{x_1}}$$

und $$S_2 = SAQ_{y_2} - \frac{S_{yx_2}^2}{SAQ_{x_2}}$$

6.5. Die Halbwertzeit wurde nach ASMUS (1959) wie folgt errechnet:

$$\frac{C_o}{2} = C_o \cdot e^{-k\tau} \qquad k = 2,3 \cdot b_x$$

$$\tau = 0,3014\ b_x^{-1}$$

ERGEBNISSE

1. Tierversuche

1.1. Bestimmung der HWZ von DPH und Carbamazepin im Plasma von Ratten in Abhängigkeit von der applizierten Dosis

Die Zeit, nach der die Konzentration eines Medikaments im Plasma auf die Hälfte sinkt, ist für einige Pharmaka stark von der verabreichten Menge abhängig. Mit Erhöhung der Dosis verlängert sich die HWZ unter anderem für Probenecid (DAYTON et al. 1963), Biscoumacetat, Phenylbutazon (DAYTON et al. 1967), Dicoumarol (O'REILLY et al. 1963) und Amethopterin (FREEMAN 1958). Die Dosisabhängigkeit der Plasmahalbwertzeit von DPH wurde erstmals von DAYTON et al. (1967) mitgeteilt und von GERBER und ARNOLD (1969), GERBER et al. (1971) und ARNOLD und GERBER (1970) bestätigt.

1.1.1. DPH

DAYTON et al. (1967) ermittelten bei Hunden nach intravenöser Gabe von 20 bzw. 50 mg DPH/kg Halbwertzeiten von 1,5 bzw. 5,5 Std.. GERBER et al. (1971) fanden bei Ratten nach 10,25 und 40 mg DPH/kg i.v. eine Verlängerung der HWZ von 0,6 auf 1,2 bzw. 2,5 Std..

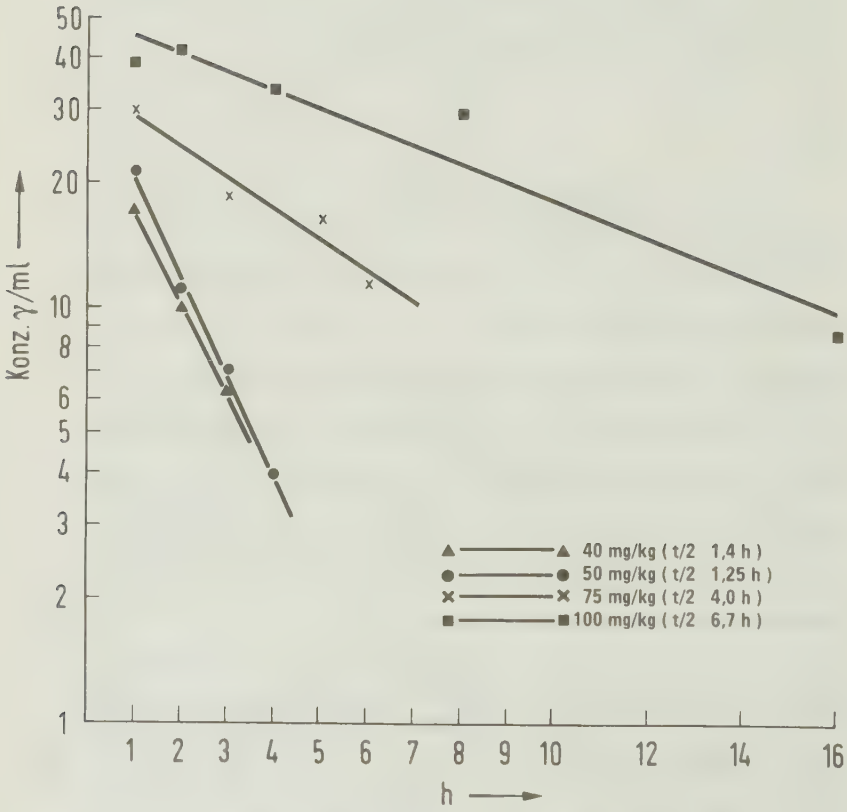
In der vorliegenden Arbeit wurde die HWZ von DPH bei Ratten nach einmaliger Gabe von 40, 50, 75 und 100 mg/kg i.p. bestimmt. Jeder Meßpunkt ist der Mittelwert aus Bestimmungen von mindestens 5, höchstens 23 Einzelwerten.

Die Plasmakonzentrationen sind in den Abbildungen halblogarithmisch in Abhängigkeit von der Zeit aufgetragen, die HWZ ist aus der entstehenden Kurve errechnet.

Im Gegensatz zur langsamen enteralen Resorption beim Menschen wird DPH nach intraperitonealer Gabe bei der Ratte schnell resorbiert. Die Konzentrationsbestimmungen wurden deshalb 1 Std. nach der Injektion begonnen.

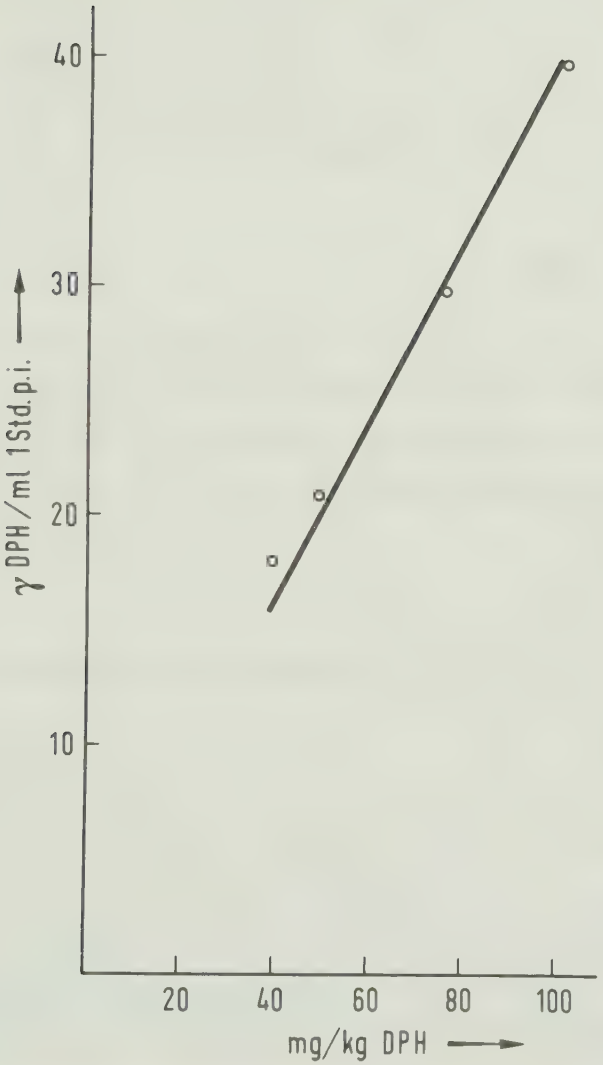
Wie aus Abb. 4 hervorgeht, stellen sich alle Eliminationskurven in dem gewählten Zeitraum zwischen 1 und maximal 16 Std. in guter Näherung im halblogarithmischen Maßstab als Geraden dar.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von GERBER et al. (1971) und DAYTON et al. (1967) wird die HWZ von DPH mit steigender Dosis unter den gegebenen Versuchsbedingungen deutlich von 1,4 Std. nach 40 mg/kg auf 6,8 Std. nach 100 mg/kg verlängert (Abb. 4, Tab. 1). Die Halbwertzeiten nach 40 und 50 mg/kg bzw. nach 75 und 100 mg/kg unterscheiden sich nicht signifikant. Mit Erhöhung der verabreichten Dosis steigt direkt proportional auch die Plasmakonzentration 1 Std. p.i. (Abb. 5). Nach 100 mg DPH/kg ist innerhalb der ersten und zweiten Stunde p.i. noch ein geringfügiger Anstieg der Plasmakonzentration zu beobachten. Da mit der durchgeführten Bestimmungsmethode nur unverändertes DPH nachgewiesen wird, kann geschlossen werden, daß bei dieser hohen Dosis in den ersten beiden Stunden die Resorptionsgeschwindigkeit noch größer ist als die Eliminationsgeschwindigkeit. Die Be-



Regressionsgeraden der Elimination von DPH im Rattenplasma in Abhängigkeit von der applizierten Dosis

Abb. 4



Abhängigkeit der DPH – Plasmakonzentration 1 Std. p.i. von der applizierten Dosis

Abb. 5

rechnung der Regression ergab trotz des starken Abfalls der Plasmakonzentration zwischen 8 und 16 Std. p.i. eine Gerade mit r = 0,88. Ihr Verlauf ohne Berücksichtigung des 1 Std.-Wertes weicht nur geringfügig ab und ändert die HWZ kaum.

1.1.2. Carbamazepin

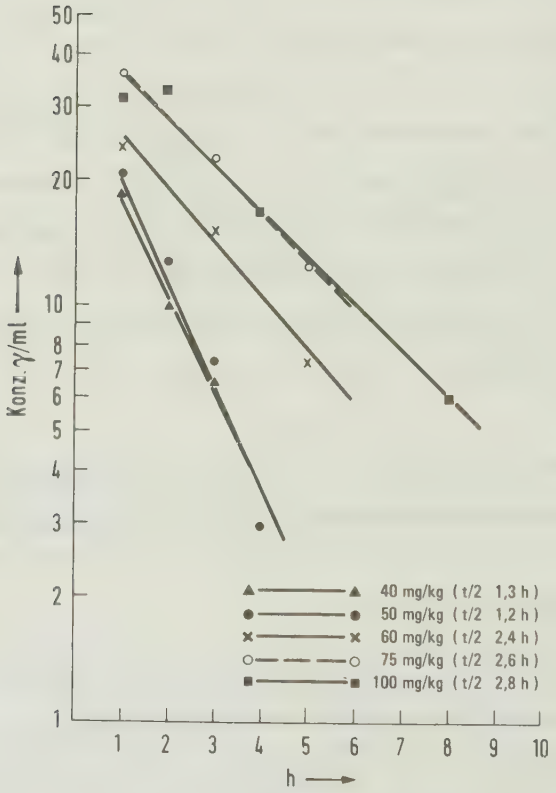
Untersuchungen über die Dosisabhängigkeit der HWZ von Carbamazepin sind bisher nicht bekannt geworden.
In den vorliegenden Experimenten wurden die Halbwertzeiten von Carbamazepin nach einmaliger intraperitonealer Gabe von 40, 50, 60, 75 und 100 mg/kg bei Ratten bestimmt und die Ergebnisse wie in den Versuchen mit DPH ausgewertet.
Ebenso wie DPH wird Carbamazepin bei der Ratte nach intraperitonealer Applikation schnell resorbiert. Auch hier ist 1 Std. p.i., bei 100 mg/kg 2 Std. p.i. der maximale Gehalt an Carbamazepin im Plasma erreicht, dem die überwiegende Elimination folgt und der als Ausgangswert der Bestimmung der HWZ verwendet werden kann. In dem beobachteten Zeitraum von 1 bis 8 Std. p.i. liegen alle Meßwerte im halblogarithmischen Maßstab mit guter Näherung auf einer Geraden.

Carbamazepin verhält sich im Hinblick auf die Dosisabhängigkeit der HWZ offensichtlich etwas anders als DPH. Im unteren Dosisbereich (40 und 50 mg/kg) entspricht die Eliminationsgeschwindigkeit der des DPH (1,3 bzw. 1,2 Std.), erhöht sich aber selbst nach 100 mg/kg nur um das Doppelte (Abb. 6, Tab. 2), während sie bei DPH um das Fünffache zunimmt. Zwischen den Regressionsgeraden aus den Meßwerten von 60 und 75 bzw. 100 mg/kg findet lediglich eine Parallelverschiebung bei gleichbleibender HWZ statt. Die Elimination von Carbamazepin aus dem Plasma von Ratten ist demnach weit unabhängiger von der applizierten Dosis als es bei DPH der Fall ist.

1.2. Bestimmung der HWZ von DPH in Kombination mit Carbamazepin bzw. von Carbamazepin in Kombination mit DPH

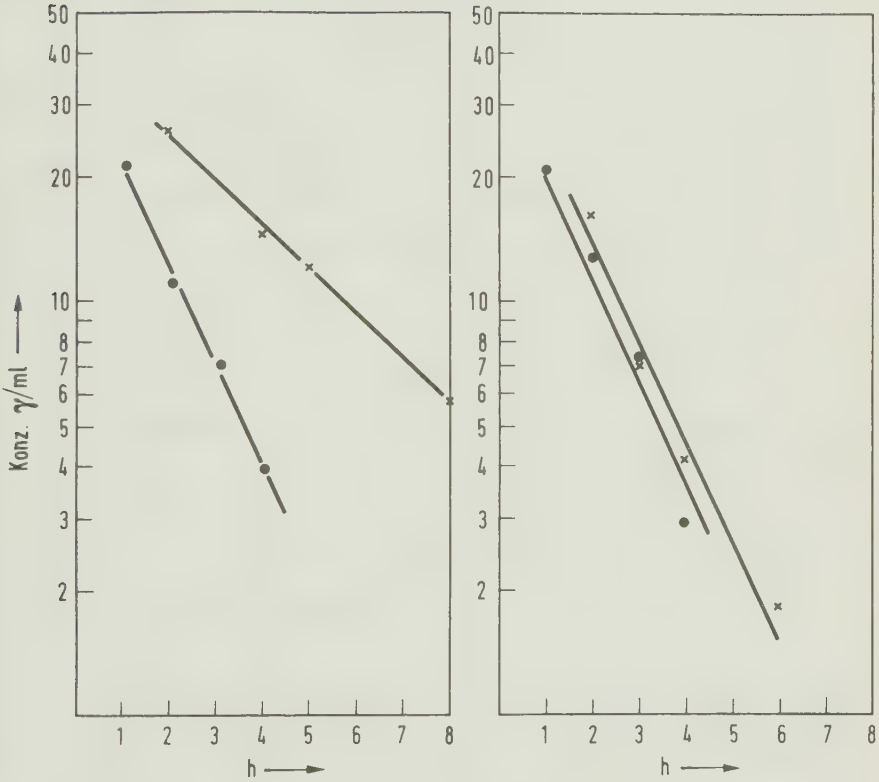
1.2.1. Akutversuche

Bei gleichzeitiger Applikation von je 50 mg/kg DPH und Carbamazepin wird die HWZ des DPH beeinflußt, die des Carbamazepins dagegen nicht (Abb. 7a und b, Tab. 3). Die HWZ von DPH in Kombination mit Carbamazepin ist mit 2,8 Std. gegenüber 1,25 Std. ohne Zusatzmedikation signifikant verlängert. Dabei ändert sich das fiktive Verteilungsvolumen offensichtlich nicht, wie aus dem



Regressionsgeraden der Elimination von Carbamazepin im Rattenplasma in Abhängigkeit von der applizierten Dosis

Abb. 6



Regressionsgeraden der Elimination von 50 mg/kg DPH im Rattenplasma

●——● Kontrollen (t/2 1,25 h)

×——× Bei gleichzeitiger Gabe von 50 mg/kg Carbamazepin (t/2 2,8 h)

Regressionsgeraden der Elimination von 50 mg/kg Carbamazepin im Rattenplasma

●——● Kontrollen (t/2 1,2 h)

×——× Bei gleichzeitiger Gabe von 50 mg/kg DPH (t/2 1,25 h)

Abb. 7a,b

annähernd gleichen Schnittpunkt der Eliminationskurve mit der y-Achse zu ersehen ist. Die HWZ von Carbamazepin bleibt mit 1,25 Std. gegenüber 1,2 Std. ohne zusätzliche Gabe von DPH unverändert.

1.2.2. Subchronische Versuche

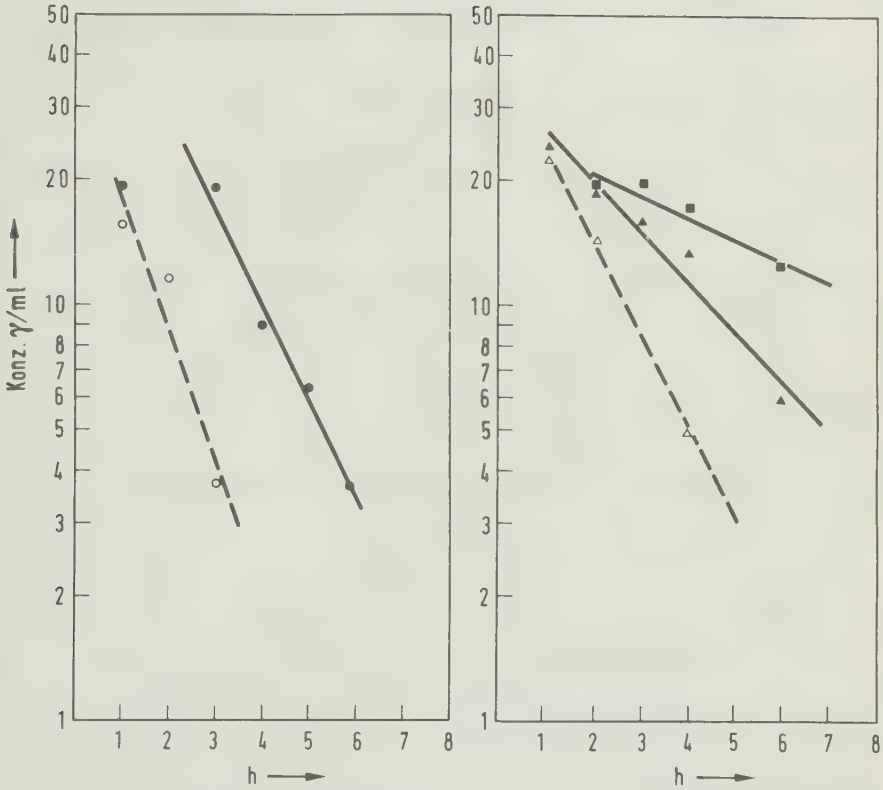
1.2.2.1. Bestimmung der HWZ von DPH und Carbamazepin nach 10tägiger Vorbehandlung mit den Einzelsubstanzen

Um die Frage beantworten zu können, ob DPH und Carbamazepin sich bei längerer Medikation gegenseitig in der HWZ beeinflussen, mußte zunächst geprüft werden, ob und in welchem Ausmaß jedes Medikament bei subchronischer Applikation in seinen eigenen Abbau eingreift. GERBER und ARNOLD (1968, 1969) fanden bei Mäusen nach Vorbehandlung mit DPH eine Beschleunigung der HWZ von DPH, die sie auf eine erhöhte Abbaurate zurückführten. Aus Untersuchungen von FREY et al. (1968) bei Hunden geht hervor, daß nach relativ niedrig dosierter Vorbehandlung bei DPH eher die Tendenz zur Verlängerung der HWZ besteht. Entsprechende Versuche mit Carbamazepin sind bisher nicht beschrieben.

In den eigenen Experimenten erhielten die Ratten 10 Tage lang 10 mg/kg DPH i.p.. Am 11. Tag wurde 50 mg/kg DPH i.p. injiziert und die HWZ im Plasma bestimmt. Sie ist gegenüber der HWZ bei den Kontrollen, die mit $NaHCO_3$-Puffer vorbehandelt waren, nicht signifikant verändert. Die HWZ beträgt 0,95 Std. ohne bzw. 1,3 Std. bei DPH-Vorbehandlung (Abb. 8a, Tab. 4). Beide Geraden sind allerdings erheblich parallelverschoben, d.h. die Plasmakonzentrationen, die bei den Kontrollen gemessen werden, erreichen nach subchronischer Vorbehandlung mit DPH erst

2 bis 3 Std. später ähnliche Werte. Zur Berechnung der Regressionsgeraden der Meßwerte nach subchronischer Vorbehandlung mit DPH konnte der 1 Std.-Wert nicht mitberücksichtigt werden, da die Resorption offensichtlich stark verzögert ist.

Entsprechende Versuche mit Carbamazepin (10tägige Vorbehandlung mit 15 mg/kg Carbamazepin) ergaben mit 1,2 bzw. 1,0 Std., errechnet ohne den 1 Std.-Wert, ebenfalls keine wesentliche Änderung der HWZ (Abb. 9a, Tab. 5).



Regressionsgeraden der Elimination von 50 mg/kg DPH im Rattenplasma

○ — — — ○ Kontrollen nach 10-tägiger Behandlung mit Puffer (t/2 0,95 h)

● ——— ● nach 10-tägiger Behandlung mit 10 mg/kg DPH (t/2 1,3 h)

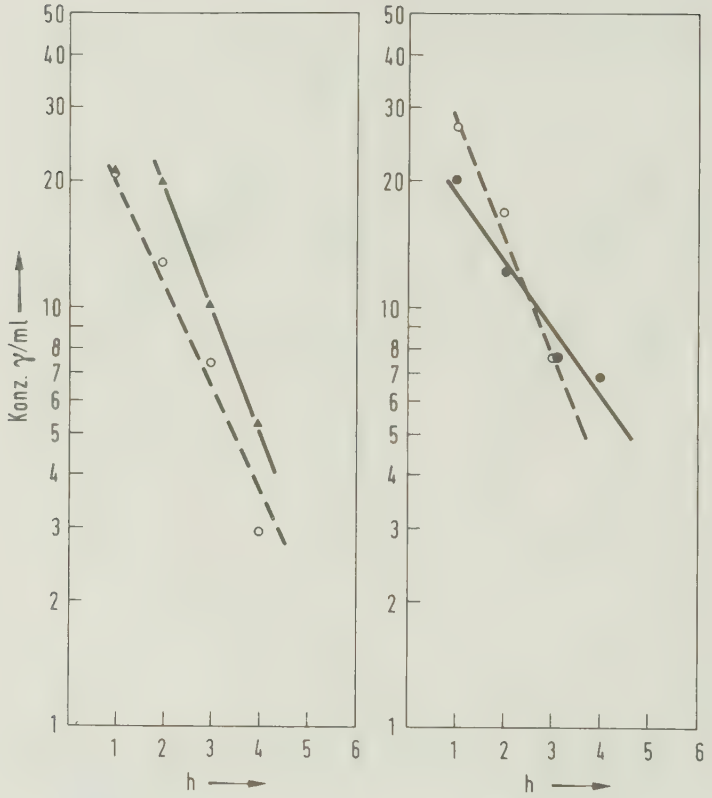
Regressionsgeraden der Elimination von 50 mg/kg DPH im Rattenplasma

△ — — — △ Kontrollen nach 10-tägiger Behandlung mit Öl (t/2 1,4 h)

▲ ——— ▲ nach 10-tägiger Behandlung mit 15 mg/kg Carbamazepin (t/2 2,5 h)

■ ——— ■ nach 10-tägiger Behandlung mit 10 mg/kg DPH und 15 mg/kg Carbamazepin (t/2 5,9 h)

Abb. 8a,b



Regressionsgeraden der Elimination von 50 mg/kg Carbamazepin im Rattenplasma

○— — —○ Kontrollen (t/2 1,2 h)

▲———▲ nach 10-tägiger Behandlung mit 15 mg/kg Carbamazepin (t/2 1,0 h)

Regressionsgeraden der Elimination von 50 mg/kg Carbamazepin im Rattenplasma

○— — —○ Kontrollen nach 10-tägiger Behandlung mit Puffer (t/2 1,1 h)

●———● nach 10-tägiger Behandlung mit 10 mg/kg DPH (t/2 1,9 h)

Abb. 9 a, b

1.2.2.2. Bestimmung der HWZ von DPH in Kombination mit Carbamazepin bzw. von Carbamazepin in Kombination mit DPH nach subchronischer Applikation

Nach 10tägiger Vorbehandlung der Ratten mit 15 mg/kg Carbamazepin war ein Unterschied zwischen der HWZ von DPH nach einmaliger Gabe von 50 mg/kg i.p. (2,5 Std.) und den Kontrollen, die nur Lösungsmittel erhielten (1,4 Std.), wegen der erheblichen Streuung der Ergebnisse statistisch nicht zu sichern (Abb. 8b, Tab. 4).

Analoge Versuche mit Carbamazepin nach subchronischer Vorbehandlung mit 10 mg/kg DPH ergaben zwar eine statistisch signifikante Erhöhung der HWZ gegenüber den Kontrollen; sie stieg jedoch nur von 1,1 auf 1,9 Std. (Abb. 9b, Tab. 5) und ist deshalb wohl kaum von biologischer Bedeutung, zumal das fiktive Verteilungsvolumen unter diesen Bedingungen offenbar vergrößert ist. Dagegen ist die HWZ von DPH nach einmaliger Gabe von 50 mg/kg nach 10tägiger kombinierter Vorbehandlung mit 10 mg/kg DPH und 15 mg/kg Carbamazepin deutlich verlängert. Sie beträgt 5,9 Std. (Abb. 8b, Tab. 4). Offensichtlich ist hier die Resorption verzögert, da die Meßpunkte nach 2 und 3 Std. etwa auf gleicher Höhe liegen. Erst danach beginnt der Abfall der Eliminationskurve. Die HWZ ist jedoch auch ohne den 2 Std.-Wert gegenüber den Kontrollen noch stark erhöht.

Auf entsprechende Versuche mit Carbamazepin wurde ver-

zichtet, da sich in den vorhergehenden Experimenten keine Änderung der HWZ nach 50 mg/kg Carbamazepin feststellen ließ.

2. Untersuchungen bei Patienten

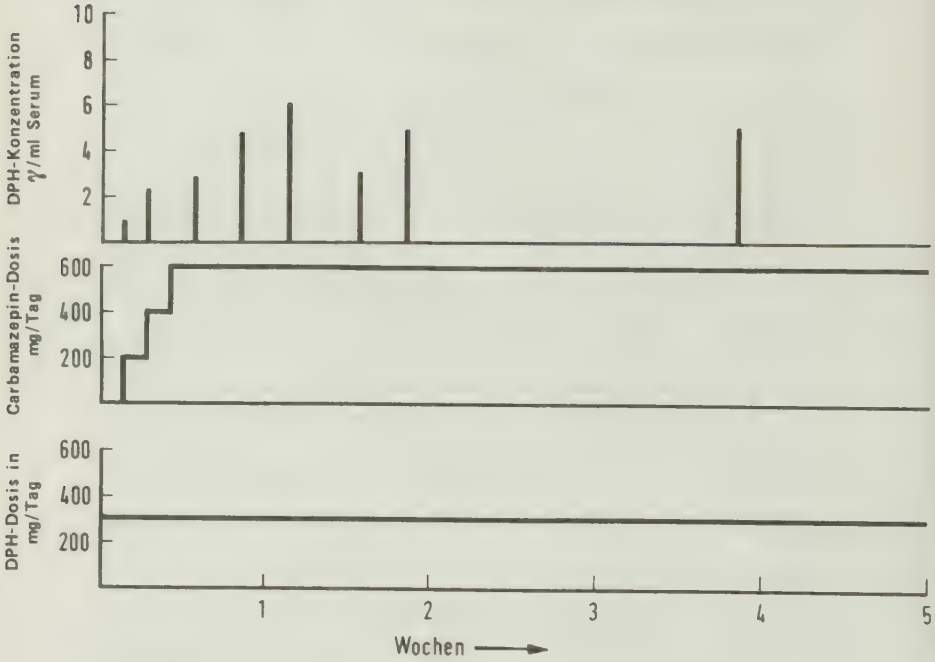
An fünf Patienten wurde das Verhalten der Serumkonzentration von DPH nach Zugabe bzw. Absetzen von Carbamazepin untersucht. Obwohl eine Übertragung tierexperimenteller Ergebnisse auf Menschen nicht ohne weiteres statthaft ist, wäre nach den vorausgegangenen Untersuchungen eine Erhöhung des DPH-Serumspiegels nach gleichzeitiger Gabe von Carbamazepin bzw. ein Absinken der Konzentration nach Absetzen der Zusatzmedikation zu erwarten.

1. Der Patient E. G. hatte bei einer seit Monaten konstanten täglichen Einnahme von 300 mg DPH (4 mg/kg) direkt vor Änderung der Medikation eine Serumkonzentration unter 3 µg DPH/ml. Innerhalb von drei Wochen nach einer zusätzlichen Carbamazepingabe von 600 mg (8 mg/kg) zeigte der DPH-Serumspiegel nur eine geringe Tendenz zur Erhöhung (Abb. 10).

2. Der Patient W. P. hatte bei einer Medikation von 400 mg DPH/die (6,7 mg/kg) Intoxikationserscheinungen (Drehschwindel, Nystagmus, Übelkeit), die bei einer schrittweisen Reduktion der Dosis auf 300 mg (5 mg/kg) nachließen und dann innerhalb von 10 Tagen ver-

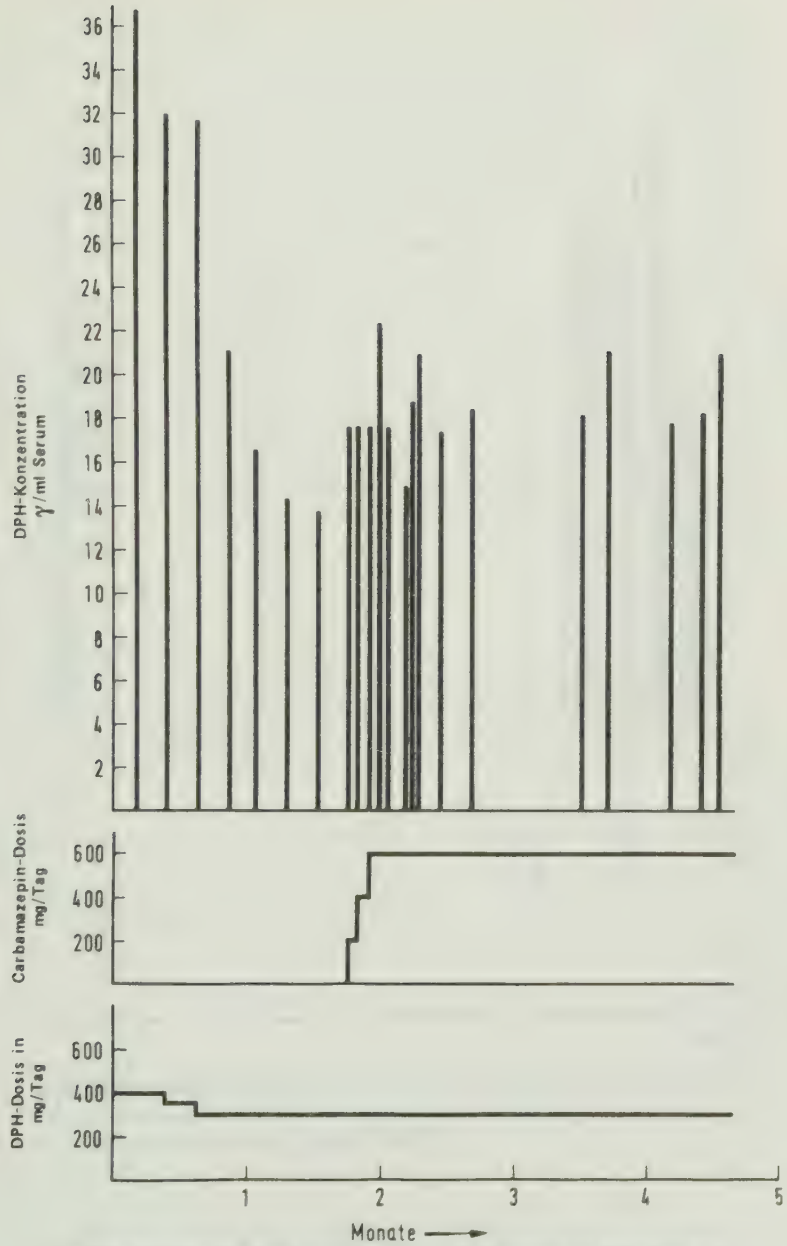
schwanden. Da bei Beginn einer Medikation mit DPH bereits nach 10 bis 14 Tagen ein konstanter Serumspiegel erreicht ist (BUCHTHAL et al. 1960, LOESER 1961), ist anzunehmen, daß bei einer Reduktion der Dosis auch nach 14 Tagen wieder konstante Werte vorhanden sind. Nach diesem Zeitpunkt lagen die Serumspiegel bei dem Patienten W. P. unter der Medikation von 300 mg DPH bei 15,6 ± 1,8 γ DPH/ml. Unter der nun folgenden Zusatzmedikation von 600 mg Carbamazepin/die (10 mg/kg) war während der Dauer von drei Monaten eine Konzentrationserhöhung (19,0 ± 2,0 γ DPH/ml, $p < 0,01$) festzustellen (Abb. 11).

3. Bei dem Patienten K.-D. L. wurde drei Wochen nach Beginn der Behandlung mit zunächst 200, dann 300 mg DPH/die (5,5 mg/kg) die Medikation um 800 mg Carbamazepin/die (14 mg/kg) erweitert. Die Konzentrationsbestimmungen von DPH erfolgten ausnahmsweise vier Stunden nach der Einnahme der Medikamente als Einzeldosis. Während der dreiwöchigen zusätzlichen Gabe von Carbamazepin war keine signifikante Änderung des DPH-Serumspiegels zu beobachten. Zwei Tage nach Absetzen von Carbamazepin sank allerdings die DPH-Konzentration im Serum und erreichte erst nach spätestens zwei Monaten wieder ihre ursprüngliche Höhe (Abb. 12). Möglicherweise sind diese Befunde nur Ausdruck der individuellen Schwankungen durch die unterschiedliche Resorption an den einzelnen Tagen.



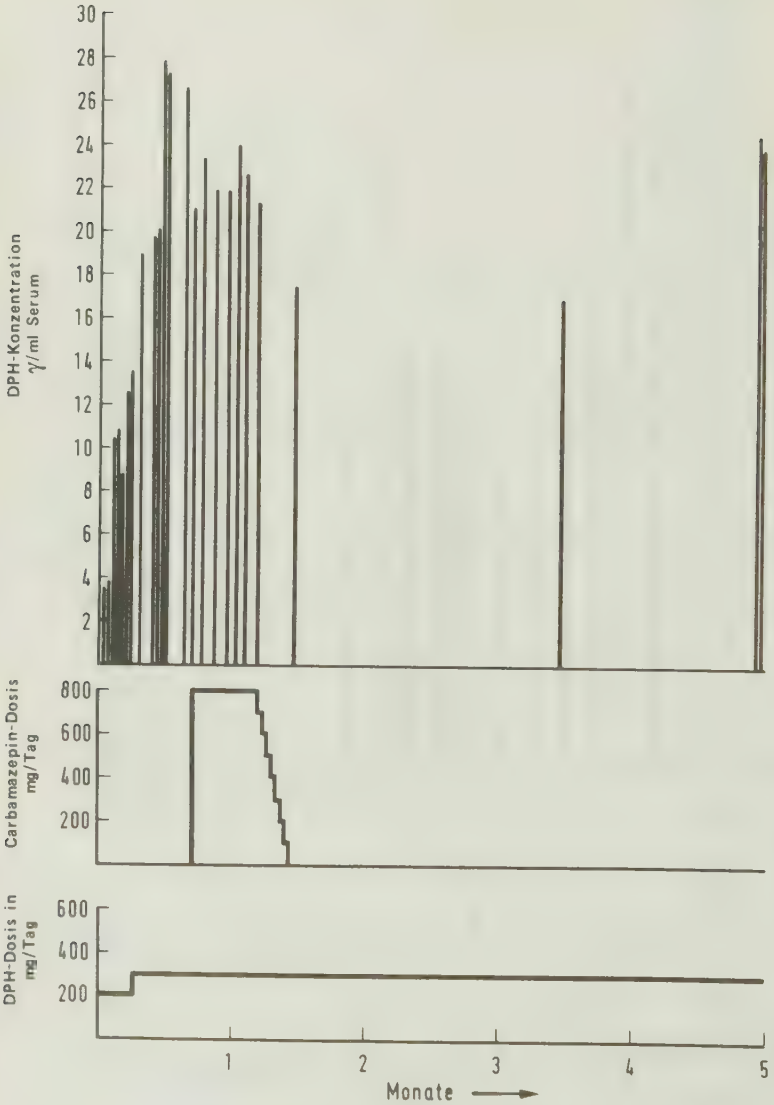
Patient E.G.: Verlauf der DPH–Serumkonzentration bei konstanter Gabe von 300 mg DPH / Tag und Erweiterung der Medikation um 600 mg Carbamazepin / Tag.

Abb. 10



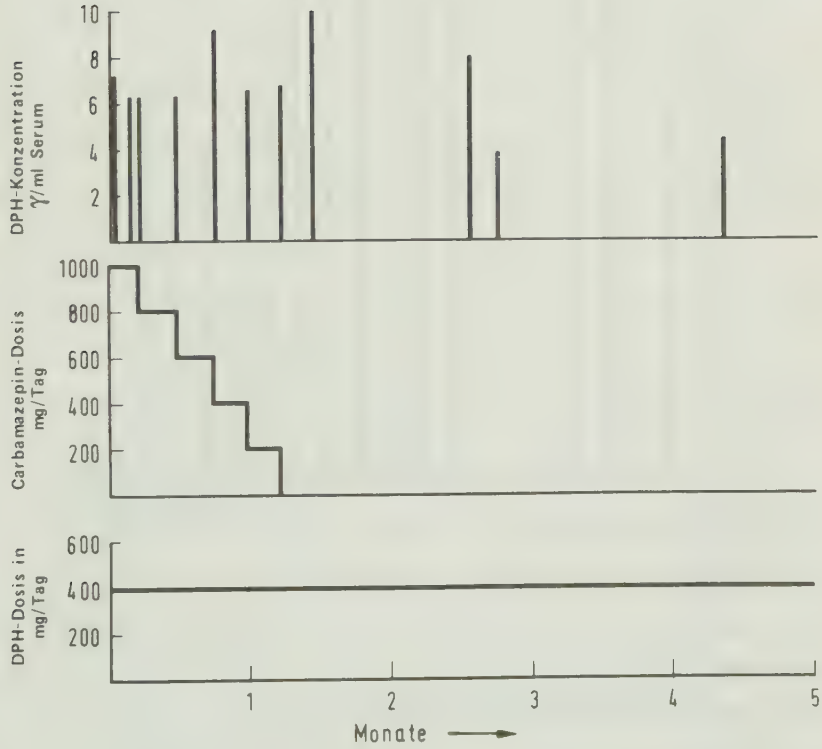
Patient W.P.: Verlauf der DPH–Serumkonzentration bei Reduktion der DPH–Dosis von 400 mg auf 300 mg/Tag und anschließender Zusatzmedikation von 600 mg Carbamazepin/Tag.

Abb. 11



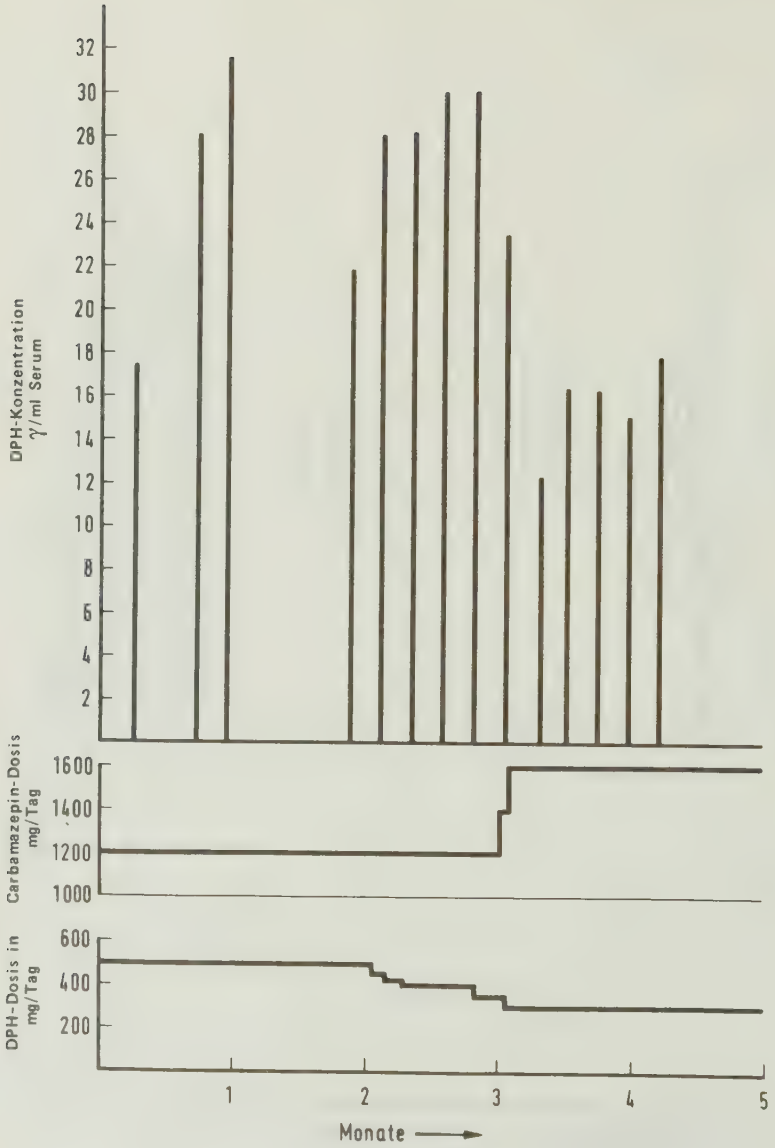
Patient K.–D. L.: Verlauf der DPH–Serumkonzentration bei Beginn der Behandlung mit 200, dann 300 mg DPH/Tag, anschließender Erweiterung der Medikation um 800 mg Carbamazepin/Tag und nach dem Absetzen von Carbamazepin.

Abb. 12



Patientin R.G.: Verlauf der DPH–Serumkonzentration während der schrittweisen Reduktion von 1000 mg Carbamazepin / Tag und nach dem Absetzen dieses Medikaments bei gleichzeitiger konstanter DPH–Medikation von 400 mg / Tag.

Abb. 13



Patientin G.H.: Verlauf der DPH–Serumkonzentration bei Reduktion der DPH–Dosis von 500 mg auf 300 mg / Tag und Erhöhung der zunächst konstanten Carbamazepin – Medikation von 1200 mg auf 1600 mg / Tag.

Abb. 14

4. Bei der Patientin R. G. wurden während einer seit Monaten konstanten täglichen Medikation von 400 mg DPH (7,3 mg/kg) und 1000 mg Carbamazepin (18,2 mg/kg) DPH-Serumspiegel bestimmt. Trotz dieser relativ hohen Dosierung von DPH und der zusätzlichen Gabe von Carbamazepin lagen die Serumkonzentrationen unter 10 γ/ml. Während der schrittweisen Reduktion von Carbamazepin innerhalb eines Monats und drei Monate nach Absetzen dieses Medikaments ließ sich keine wesentliche Änderung der DPH-Konzentration des Serums feststellen (Abb. 13).

5. Die Patientin G. H. bekam unter 500 mg DPH (10 mg/kg) und 1200 mg Carbamazepin (24 mg/kg)/die Intoxikationserscheinungen (Schwindel, Benommenheit, Ataxie, Nystagmus), wie sie bei einer Überdosierung sowohl von DPH (KUTT et al. 1964) als auch von Carbamazepin (HAJNSEK 1964) auftreten. Trotz Verminderung der DPH-Dosis auf 400 mg/die sank die Konzentration im Serum während einer Dauer von drei Wochen nicht ab, so daß eine weitere Reduktion auf 300 mg (6 mg/kg) notwendig wurde. Unter dieser Dosis gingen Nebenwirkungen und DPH-Gehalt trotz Erhöhung der Carbamazepinmedikation auf 1600 mg/die innerhalb von wenigen Tagen zurück (Abb. 14).

Die wenigen, bei Menschen gewonnenen Daten lassen keine einheitliche Beurteilung des Verhaltens der DPH-Serumkonzentration bei gleichzeitiger Gabe von Carbamazepin zu.

DISKUSSION

1. Dosisabhängigkeit der Halbwertzeiten

Als Erklärung für die Dosisabhängigkeit der HWZ von DPH kommt in erster Linie die Sättigung einer geschwindigkeitsbestimmenden Enzymreaktion in Betracht.

Auf Grund zahlreicher Untersuchungen über den Metabolismus von DPH ist bekannt, daß die Substanz zu etwa 70 % in der Leber zu 5-para-Hydroxyphenyl-5-phenylhydantoin (p-HPPH) hydroxyliert und danach vorwiegend an Glucuronsäure gekoppelt über die Niere ausgeschieden wird (BUTLER 1957, GERBER et al. 1971, GLAZKO et al. 1969, MAYNERT 1960, NOACH et al. 1958, WOODBURY 1969). Dabei ist nach GERBER et al. (1971) die Hydroxylierung der geschwindigkeitsbestimmende Schritt. Nur 1-12 % von DPH werden unverändert mit Urin und Fäzes ausgeschieden (DILL et al. 1956, MAYNERT 1960, NOACH et al. 1958, WOODBURY 1969). Deshalb ist die HWZ von DPH im Plasma oder Serum in gewisser Weise ein Maß für die Geschwindigkeit, mit der die Substanz verstoffwechselt wird. Eine Verlängerung der HWZ in Abhängigkeit von der Dosis bedeutet, daß der Abbau von DPH mit steigender Substratkonzentration gehemmt wird (ARNOLD und GERBER 1970, DAYTON et al. 1967, GERBER et al. 1971). Dabei kommt es offenbar zur Überschreitung der Kapazität des hydroxylierenden Fermentsystems in der Leber (GERBER et al. 1971).

Der Metabolismus von Carbamazepin ist noch weitgehend unbekannt. Bekannt dagegen ist, daß selbst bei hohen therapeutischen Dosen nach oraler Applikation nur geringe Mengen unveränderter Substanz im Blut und Urin von Menschen nachgewiesen werden können (CHRISTIANSEN 1971, GARDNER-THORPE et al. 1972, MORSELLI et al. 1971, TOSELAND et al. 1972). BREDENSTEIN (1972) beschreibt in seiner Inaugural-Dissertation neben unverändertem Carbamazepin 4 von 11 nachgewiesenen Abbauprodukten im Urin als 9-Methylacridin, Acridin-9-carbaldehyd, Acridin und Acridon. GOENECHEA und HECKE-SEIBICKE (1972) identifizierten einen von 7 Metaboliten als 10,11-Dihydroxy-5H-dibenzo[b,f]-dihydroazepin-5-carbamoyl. Nach den dünnschichtchromatographischen Untersuchungen von BREDENSTEIN sowie GOENECHEA und HECKE-SEIBICKE ist kein Abbauprodukt mengenmäßig bevorzugt. Möglicherweise besteht daher auch in weiten Bereichen keine Abhängigkeit der HWZ von der Dosis.

2. <u>Verlängerung der HWZ von DPH bei gleichzeitiger Gabe von Carbamazepin</u>

Für die deutliche Erhöhung der HWZ von DPH bei gleichzeitiger Gabe von Carbamazepin könnte sowohl eine Hemmung oder Verzögerung der Resorption als auch eine Verdrängung des DPH vom Fermentsystem durch Carbamazepin verantwortlich gemacht werden.

Es ist vorstellbar, daß die Resorption aus dem Peritonealraum der Ratte bei gleichzeitiger Applikation der beiden Medikamente in dieser hohen Dosierung und mit den unterschiedlichen Lösungsvermittlern besonders nach subchronischer Vorbehandlung beeinträchtigt sein kann. Diese Frage wird durch Experimente, in denen die Substanzen intravenös injiziert werden, zu klären sein.

Gleichzeitig ist jedoch auch eine Hemmung des Abbaus von DPH durch Verdrängung von den mischfunktionellen Oxygenasen in der Leber in Betracht zu ziehen, selbst wenn die Bindungsstellen der Substrate nicht mit dem Ort der Metabolisierung identisch sind.

KUTT und FOUTS (1971) folgerten aus Experimenten mit Lebermikrosomen von Ratten, bei denen der in vitro-Metabolismus von DPH durch Zusatz von verschiedenen Substanzen schon in geringer Konzentration beeinflußt wurde, daß DPH ein Substrat mit geringer Affinität zu den mikrosomalen Enzymen ist und dadurch sein Abbau von vielen Medikamenten, wie z.B. INH, Dicoumarol, Disulfiram, Phenyramidol und Sulthiame verändert werden kann. Die Verlängerung der HWZ von 50 mg/kg DPH in Kombination mit 50 mg/kg Carbamazepin und besonders nach subchronischer Vorbehandlung mit 10 mg/kg DPH und 15 mg/kg Carbamazepin wäre dann dahingehend zu deuten, daß während der Kombinationsbehandlung die Bindungs- oder metabolische Leistungsgrenze der Leber für DPH in Anwesenheit von Carbamazepin unter den beschriebenen Bedingungen erreicht ist

und die Substanz mit der geringeren Affinität zum Fermentsystem, also das DPH, von dem Enzym teilweise verdrängt und dadurch wesentlich langsamer metabolisiert und ausgeschieden wird.

Das Problem einer Kombinationsbehandlung mit DPH und Carbamazepin bei Patienten wurde bereits von HANSEN et al. (1971 b) und OELKERS (1971) untersucht, die zu unterschiedlichen Ergebnissen kamen. Während HANSEN et al. bei 5 Patienten eine Beschleunigung der HWZ und bei 3 von 7 Patienten ein Absinken des DPH-Spiegels im Serum nach intravenöser DPH-Gabe bei gleichzeitiger oraler Medikation von Carbamazepin feststellten, fand OELKERS in seinen Untersuchungen bei Kindern nach oraler Gabe beider Substanzen eine Erhöhung des Serumspiegels von DPH.
Aus dem unterschiedlichen Verhalten der DPH-Konzentrationen in den eigenen Untersuchungen lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1. Patienten, die bei alleiniger DPH-Gabe niedrige Serumspiegel haben, tolerieren eine zusätzliche Medikation von Carbamazepin, da die Kapazität der mischfunktionellen Oxygenasen in der Leber noch nicht erschöpft ist.

2. Bei Patienten jedoch, die schon auf eine übliche DPH-Medikation mit relativ hohen Serumkonzentrationen antworten, kann eine kombinierte Behandlung mit Carbam-

azepin die metabolische Leistungsgrenze der Leber erreichen oder sogar überschreiten und dann zu einer DPH-Intoxikation führen.

Auf Grund der eigenen Ergebnisse und der Untersuchungen von HANSEN et al. (1971 b) und OELKERS (1971) erfordern Änderungen der antiepileptischen Medikation von DPH und Carbamazepin eine Kontrolle der DPH-Serumspiegel, um eventuell auftretende Intoxikationen oder Absinken der DPH-Konzentration unter den therapeutisch wirksamen Spiegel von 10 γ DPH/ml (BUCHTHAL et al. 1960) rechtzeitig erkennen zu können.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde an Ratten die Dosisabhängigkeit der HWZ von DPH und Carbamazepin und die gegenseitige Beeinflussung der HWZ beider Substanzen nach akuter und subchronischer gleichzeitiger Applikation sowie an Patienten das Verhalten der DPH-Serumkonzentration nach Zugabe bzw. Absetzen von Carbamazepin untersucht.

Mit steigender Dosis verlängert sich die HWZ von DPH um ein Vielfaches, während sie bei Carbamazepin nur um das Doppelte zunimmt.

Bei gleichzeitiger Applikation von DPH und Carbamazepin wird im Akutversuch nur die HWZ des DPH verlängert, während die des Carbamazepins unverändert bleibt.

Durch Bestimmung der HWZ von DPH und Carbamazepin nach subchronischer Vorbehandlung sowohl mit der Einzelsubstanz selbst als auch mit dem jeweils anderen Pharmakon konnte eine Änderung im Abbau beider Medikamente nicht sicher nachgewiesen werden. Dagegen ist die HWZ von DPH nach kombinierter subchronischer Vorbehandlung mit DPH und Carbamazepin deutlich verlängert.

Während der Kombinationsbehandlung wird offensichtlich die Bindungs- bzw. metabolische Leistungsgrenze der Leber für DPH erreicht und das DPH als Substanz mit der geringeren Affinität zum Fermentsystem von dem Enzym teilweise verdrängt und dadurch wesentlich langsamer metabolisiert und ausgeschieden.

Bei den Untersuchungen an Patienten konnte kein einheitliches Ver-

halten der DPH-Serumkonzentration bei gleichzeitiger Gabe von Carbamazepin festgestellt werden. Aus den Ergebnissen läßt sich jedoch schließen, daß Patienten mit niedrigen DPH-Serumspiegeln eine zusätzliche Carbamazepingabe tolerieren, während bei Patienten mit relativ hohen Serumkonzentrationen eine kombinierte Behandlung mit Carbamazepin zu einer DPH-Intoxikation führen kann.

TABELLEN

Tabelle 1: Plasmakonzentrationen von DPH nach Gabe von 40, 50, 75 und 100 mg/kg

DPH	Std. p.i.	n	Plasmakonzentration (µg/ml)
40 mg/kg	1	6	17,4 ± 8,1
	2	6	10,0 ± 4,4
	3	6	6,3 ± 4,2
50 mg/kg	1	10	21,3 ± 2,3
	2	10	11,2 ± 1,4
	3	8	7,1 ± 2,1
	4	9	4,0 ± 1,4
75 mg/kg	1	7	29,9 ± 9,6
	3	7	18,6 ± 6,7
	5	6	16,2 ± 6,6
	6	5	11,2 ± 5,4
100 mg/kg	1	7	38,6 ± 4,4
	2	8	41,8 ± 6,2
	4	10	33,8 ± 4,2
	8	8	30,5 ± 12,3
	16	8	9,1 ± 3,4

Signifikanz zwischen den Steigungen der Regressionsgeraden der DPH-Elimination

40 mg/kg - 75 mg/kg*
40 mg/kg - 100 mg/kg*
50 mg/kg - 75 mg/kg*
50 mg/kg - 100 mg/kg*

*$2p < 0{,}001$

Tabelle 2: Plasmakonzentrationen von Carbamazepin nach Gabe 40, 50, 60, 75 und 100 mg/kg

Carbamazepin	Std. p.i.	n	Plasmakonzentration (γ/ml
40 mg/kg	1	8	18,5 ± 2,6
	2	16	9,9 ± 4,0
	3	8	6,7 ± 1,8
50 mg/kg	1	14	20,4 ± 3,2
	2	12	12,7 ± 3,0
	3	20	7,3 ± 4,0
	4	10	3,0 ± 0,5
60 mg/kg	1	8	23,9 ± 4,6
	3	16	15,1 ± 6,5
	5	6	7,3 ± 3,6
75 mg/kg	1	8	35,7 ± 8,4
	3	8	22,5 ± 6,3
	5	6	12,3 ± 5,3
100 mg/kg	1	14	31,9 ± 4,9
	2	11	32,7 ± 6,2
	4	8	16,7 ± 5,1
	8	11	5,9 ± 1,9

Signifikanz zwischen den Steigungen der Regressionsgeraden der Carbamazepin-Elimination

40 mg/kg - 60 mg/kg*
40 mg/kg - 75 mg/kg*
40 mg/kg - 100 mg/kg*

50 mg/kg - 60 mg/kg*
50 mg/kg - 75 mg/kg*
50 mg/kg - 100 mg/kg*

*

Tabelle 3: Plasmakonzentrationen von DPH bzw. Carbamazepin nach Gabe von DPH und Carbamazepin (Akutversuche)

Substanzen	Std. p.i.	n	Plasmakonzentration (γ/ml)
Kontrollen	1	10	21,3 ± 2,3
(50 mg/kg DPH)	2	10	11,2 ± 1,4
	3	8	7,1 ± 2,1
	4	9	4,0 ± 1,4
50 mg/kg DPH +	2	21	25,5 ± 5,5
50 mg/kg Carb-	4	9	14,1 ± 3,2
amazepin	5	8	11,9 ± 5,7
	8	14	5,7 ± 1,9
Kontrollen	1	14	20,4 ± 3,2
(50 mg/kg Carb-	2	12	12,7 ± 3,0
amazepin)	3	20	7,3 ± 4,0
	4	10	3,0 ± 0,5
50 mg/kg Carb-	2	13	16,1 ± 3,7
amazepin +	3	14	7,0 ± 1,9
50 mg/kg DPH	4	11	4,1 ± 1,4
	6	7	1,8 ± 0,4

Signifikanz zwischen den Steigungen der Regressionsgeraden der DPH- bzw. Carbamazepin-Elimination

Kontrollen (50 mg/kg DPH) - 50 mg/kg DPH + 50 mg/kg Carbamazepin ($2p < 0,001$)

Tabelle 4: Plasmakonzentrationen von DPH nach Gabe von 50 mg/kg und subchronischer Vorbehandlung mit Puffer, 10 mg/kg DPH, Öl, 15 mg/kg Carbamazepin bzw. 10 mg/kg DPH und 15 mg/kg Carbamazepin

Vorbehandlung	Std. p.i.	n	Plasmakonzentration (γ/ml)
Puffer	1	6	15,4 ± 5,4
	2	7	11,6 ± 5,3
	3	7	3,7 ± 2,8
10 mg/kg DPH	1	12	19,2 ± 5,3
	3	10	19,2 ± 7,7
	4	14	8,9 ± 4,4
	5	10	6,4 ± 5,0
	6	7	3,7 ± 2,1
Öl	1	8	22,7 ± 5,2
	2	8	14,4 ± 7,2
	3	6	5,0 ± 3,3
15 mg/kg Carb-	1	12	24,5 ± 5,9
amazepin	2	12	19,1 ± 4,6
	3	23	16,1 ± 7,3
	4	8	13,8 ± 2,7
	6	12	6,1 ± 4,2
10 mg/kg DPH +	2	11	19,5 ± 6,6
15 mg/kg Carb-	3	10	19,3 ± 3,4
amazepin	4	9	17,5 ± 4,6

Signifikanz zwischen den Steigungen der Regressionsgeraden der DPH-Elimination

Vorbehandlung mit Öl - Vorbehandlung mit DPH + Carbamazepin

($2p < 0{,}001$)

Tabelle 5: Plasmakonzentrationen von Carbamazepin nach Gabe von 50 mg/kg und subchronischer Vorbehandlung mit 15 mg/kg Carbamazepin, Puffer und 10 mg/kg DPH

Vorbehandlung	Std. p.i.	n	Plasmakonzentration (γ/ml
Keine	1	14	20,4 ± 3,2
	2	12	12,7 ± 3,0
	3	20	7,3 ± 4,0
	4	10	3,0 ± 0,5
15 mg/kg Carb-	1	19	20,6 ± 4,6
amazepin	2	21	19,8 ± 4,1
	3	18	10,1 ± 2,7
	4	16	5,2 ± 1,2
Puffer	1	7	26,8 ± 4,2
	2	8	16,9 ± 5,2
	3	7	7,6 ± 0,9
10 mg/kg DPH	1	13	20,0 ± 2,4
	2	9	12,1 ± 2,9
	3	8	7,6 ± 2,0
	4	11	6,9 ± 2,7

Signifikanz zwischen den Steigungen der Regressionsgeraden der Carbamazepin-Eliminiation

Vorbehandlung mit Puffer - Vorbehandlung mit DPH

($2p < 0,001$)

LITERATURVERZEICHNIS

1. ARNOLD, K., N. GERBER: The rate of decline of diphenylhydantoin in human plasma.
Clin. Pharmacol. Ther. 11 (1970), 121

2. ASMUS, E.: Einführung in die höhere Mathematik.
3. Aufl., S. 128: "Die negative Exponentialfunktion".
De Gruyter + Co., Berlin 1959

3. BEYER, K.-H., O. BREDENSTEIN, G. SCHENK: Isolierung und Identifizierung eines Carbamazepin-Reaktionsproduktes.
Arzneimittel-Forsch. 7 (1971), 1033

4. BREDENSTEIN, O.: Analytik einiger therapeutisch angewandter Dibenzazepinderivate und Metabolismus des 5-Carbamoyl-5H-dibenzo[b,f]azepin (INN: Carbamazepin; Tegretal^{R}).
Inaug.-Diss. Fachbereich Pharmazie, Freie Univ. Berlin 1972

5. BUCHTHAL, F., O. SVENSMARK, P.J. SCHILLER: Clinical and encephalographic correlations with serum levels of diphenylhydantoin.
Arch. Neurol. (Chic.) 2 (1960), 624

6. BUTLER, T.C.: The metabolic conversion of 5,5-diphenylhydantoin to 5-(p-hydroxyphenyl)-5-phenylhydantoin.
J. Pharmacol. exp. Ther. 119 (1957), 1

7. CHRISTENSEN, L.K., L. SKOVSTED: Inhibition of drug metabolism by chloramphenicol.
Lancet II (1969), 1397

8. CHRISTIANSEN, J.: Assay of drugs and their metabolites in capillary blood.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 27 (1971), Suppl. 118, 67

9. COPER, H., H. SELBACH: Zur Wirkungsweise von Antiepileptika.
Therapiewoche 20 (1970), 657

10. DAYTON, P.G., S.A. CUCINELL, M. WEISS, J.M. PEREL: Dose-dependence of drug plasma level decline in dogs.
J. Pharmacol. exp. Ther. 158 (1967), 305

11. DAYTON, P.G., T.F. YÜ, W. CHEN, L. BERGER, L.A. WEST, A.B. GUTMAN: The physiological disposition of probenecid, including renal clearance, in man, studied by an improved method for its estimation in biological material.
J. Pharmacol. exp. Ther. 140 (1963), 278

12. DILL, W.A., A. KAZENKO, L.M. WOLF, A.J. GLAZKO: Studies on 5,5-diphenylhydantoin (Dilantin) in animals and man.
J. Pharmacol. exp. Ther. 118 (1956), 270

13. DOCUMENTA GEIGY: Wissenschaftliche Tabellen.
7. Aufl., S. 32
K. Diem + C. Leutner, Basel 1969

14. DOLCE, E.: Über den antiepileptischen Aktionsmechanismus von 5-Carbamyl-5H-dibenzo[b,f]azepin.
Arzneimittel-Forsch. 19 (1969), 1257

15. FREEMAN, M.V.: The fluorometric measurement of the absorption, distribution and excretion of single doses of 4-amino-10-methyl-pteroylglutamic acid (amethopterin) in man.
J. Pharmacol. exp. Ther. 122 (1958), 154

16. FREY, H.-H., E. KAMPMANN, C.K. NIELSEN: Study on combined treatment with phenobarbital and diphenylhydantoin.
Acta pharmacol. (Kbh.) 26 (1968), 284

17. FÜHR, J.: Untersuchungen über die Verträglichkeit und Ausscheidung eines neuartigen Antiepilepticums.
Arzneimittel-Forsch. 14 (1964), 74

18. GARDNER-THORPE, C., M.J. PERSONAGE, P.F. SMETHURST, C. TOOTHILL: A comprehensive gas chromatographic scheme for the estimation of antiepileptic drugs.
Clin. chim. Acta 36 (1972), 223

19. GARRETSON, L.K., J.M. PEREL, P.G. DAYTON: Methylphenidate interaction with both anticonvulsants and ethyl biscoumacetate.
J. Amer. med. Ass. 207 (1969), 2053

20. GERBER, N., K. ARNOLD: The effect of diphenyl-piperazin compounds and other agents on diphenylhydantoin, zoxazolamine and hexobarbital.
J. Pharmacol. exp. Ther. 164 (1968), 232

21. GERBER, N., K. ARNOLD: Studies on the metabolism of diphenylhydantoin in mice.
J. Pharmacol. exp. Ther. 167 (1969), 77

22. GERBER, N., W.L. WELLER, R. LYNN, R.E. RANGNO, B.J. SWEETMAN, M.T. BUSH: Study of dose-dependent metabolism of 5,5-diphenylhydantoin in the rat using new methodology for isolation and quantitation of metabolites in vivo and in vitro.
J. Pharmacol. exp. Ther. 178 (1971), 567

23. GLAZKO, A.J., T. CHANG, J. BAUKEMA, W.A. DILL, J.R. GOULET, R.A. BUCHANAN: Metabolic disposition of diphenylhydantoin in normal human subjects following intravenous administration.
Clin. Pharmacol. Ther. 10 (1969), 498

24. GOENECHEA, S., E. HECKE-SEIBICKE: Beitrag zum Stoffwechsel von Carbamazepin.
Z. klin. Chem. klin. Biochem. 10 (1972), 112

25. HAJNSEK, F., N. SARTORIUS; A case of intoxication with Tegretol.
Epilepsia 5 (1964), 371

26. HANSEN, J.M., M. KRISTENSEN, L. SKOVSTED: Sulthiame (Ospolot^{R}) as inhibitor of diphenylhydantoin metabolism.
Epilepsia 9 (1968), 17

27. HANSEN, J.M., M. KRISTENSEN, L. SKOVSTED, L.K. CHRISTENSEN: Dicoumarol-induced diphenylhydantoin intoxication.
Lancet II (1966), 265

28. HANSEN, J.M., K. SIERSBAEK-NIELSEN, M. KRISTENSEN, L. SKOVSTED, L.K. CHRISTENSEN: Effect of diphenylhydantoin on the metabolism of Dicoumarol in man.
Acta med. scand. 189 (1971 a), 15

29. HANSEN, J.M., K. SIERSBAEK-NIELSEN, L. SKOVSTED: Carbamazepin-induced acceleration of diphenylhydantoin and warfarin metabolism in man. Clin. Pharmacol. Ther. 12 (1971 b), 539

30. JUBIZ, W., A.W. MEIKLE, R.A. LEVINSON: Effect of diphenylhydantoin to the metabolism of dexamethasone. N. Engl. J. Med. 283 (1970), 11

31. KATO, R., P. VASSANELLI: Induction of increased meprobamate metabolism in rats pretreated with some neurotropic drugs. Biochem. Pharmacol. 11 (1962), 779

32. KIØRBOE, E.: Phenytoin intoxication during treatment with Antabuse^{R} (disulfiram). Epilepsia 7 (1966), 246

33. KRISTENSEN, M., J.M. HANSEN, L. SKOVSTED: The influence of phenobarbital on the half-life of diphenylhydantoin in man. Acta med. scand. 185 (1969), 347

34. KUTT, H., J.R. FOUTS: Diphenylhydantoin metabolism by rat liver microsomes and some of the effects of drug or chemical pretreatment on diphenylhydantoin metabolism by rat liver microsomal preparations. J. Pharmacol. exp. Ther. 176 (1971), 11

35. KUTT, H., J. HAYNES, K. VEREBELY, F. MCDOWELL: The effect of phenobarbital on plasma diphenylhydantoin level and metabolism in man and in rat liver microsomes. Neurology (Minneap.) 19 (1969), 611

36. KUTT, H., W. WINTERS, R. KOKENGE, F. MCDOWELL: Diphenylhydantoin metabolism, blood levels, and toxicity.
Arch. Neurol. (Chic.) 11 (1964 a), 642

37. KUTT, H., W. WINTERS, F.H. MCDOWELL: Depression of diphenylhydantoin by antituberculosis chemotherapy.
Neurology (Minneap.) 16 (1966), 594

38. KUTT, H. M. WOLK, R. SCHERMAN, F. MCDOWELL: Insufficient parahydroxylation as a cause of diphenylhydantoin toxicity.
Neurology (Minneap.) 14 (1964 b), 542

39. LARSEN, P.R., A.J. ATKINSON, H.N. WELLMAN: The effect of diphenylhydantoin on thyroxin metabolism in man.
J. clin. Invest. 49 (1970), 1266

40. LOESER, E.W.: Studies on the metabolism of diphenylhydantoin (Dilantin).
Neurology (Minneap.) 11 (1961), 424

41. LUND, L., A. BERLIN, P.K.M. LUNDE: Plasma protein binding of diphenylhydantoin in patients with epilepsy.
Clin. Pharmacol. Ther. 13 (1972), 196

42. MAYNERT, E.W.: The metabolic fate of diphenylhydantoin in the dog, rat and man.
J. Pharmacol. exp. Ther. 130 (1960), 275

43. MERRIT, H.H., T.J. PUTNAM: A new series of anticonvulsant drugs tested by experiments on animals.
Arch. Neurol. Psychiat. (Chic.) 39 (1938), 1003

44. MORSELLI, P.L., M. GERNA, S. GARATTINI: Carbamazepin plasma and tissue levels in the rat.
Biochem. Pharmacol. 20 (1971), 2043

45. NIELSEN, H.R., H. REMMER: Kvantitativ bestemmelse af karbamazepin (Tegretol^{R}) i serum.
Ugeskr. Læg. 131 (1969), 2200

46. NOACH, E.L., D.M. WOODBURY, L.S. GOODMAN: Studies on the absorption, distribution, fate and excretion of 4-C^{14}-labeled diphenylhydantoin.
J. Pharmacol. exp. Ther. 122 (1958), 301

47. OELKERS, W.: Der Einfluß von Primidon (Liskantin^{R}, Mylepsinum^{R}) und Carbamazepin (Tegretal^{R}) auf den Diphenylhydantoin spiegel im Blut.
Inaug.-Diss. Med. Fachbereich, Univ. Hamburg 1971

48. OLESEN, O.V.: Disulfiramum (Antabuse^{R}) as inhibitor of phenytoin metabolism.
Acta pharmacol. (Kbh.) 24 (1966), 317

49. O'REILLY, R.A., P.M. AGGELER, L.S. LEONG: The distribution and determination of warfarin and Dicoumarol (abstract).
Clin. Res. 11 (1963), 43

50. PLAA, G.L., C.H. HINE: A method for the simultaneous determination of phenobarbital and diphenylhydantoin in blood.
J. Lab. clin. Med. 47 (1956), 649

51. REMMER, H., J. HIRSCHMANN, I. GREINER: Die Bedeutung von Kumulation und Elimination für die Dosierung von Phenytoin (Diphenylhydantoin). Dtsch. med. Wschr. 24 (1969), 1265

52. SOLOMON, H.M., S. REICH, N. SPIRT: Interactions between digitoxin and other drugs in vitro and in vivo. Ann. N.Y. Acad. Sci. 179 (1971), 362

53. SOLOMON, H.M., J.J. SCHROGIE: The effect of phenyramidol on the metabolism of diphenylhydantoin. Clin. Pharmacol. Ther. 8 (1967), 554

54. STENGER, E.G., F.C. ROULET: Zur Toxikologie des Antiepileptikums Tegretol^{R}. Med. Exp. (Basel) 11 (1964), 191

55. SVENSMARK, O., P.J. SCHILLER, F. BUCHTHAL: 5,5-Diphenylhydantoin (Dilantin^{R}) blood levels after oral or intravenous dosage in man. Acta pharmacol. (Kbh.) 16 (1960), 331

56. SZEBERENYI, S., M.T. TACCONI, S. GARATTINI: Increased metabolism of metyrapone in rats pretreated with diphenylhydantoin or phenobarbital. Endocrinology 85 (1969), 575

57. THEOBALD, W., H.A. KUNZ: Zur Pharmakologie des Antiepileptikums 5-Carbamyl-5H-dibenzo[b,f]azepin. Arzneimittel-Forsch. 13 (1963), 122

58. TOSELAND, P.A., J. GROVE, D.J. BERRY: An isothermal GLC determination of the plasma levels of diphenylhydantoin, phenobarbitone and primidone. Clin. chim. Acta 38 (1972), 321

59. WEIST, F., L. ZICHA: Dünnschichtchromatographische Untersuchungen über 5-Carbamyl-5H-dibenzo[b,f]azepin in Harn und Liquor bei neuen Indikationsgebieten. Arzneimittel-Forsch. 17 (1967), 874

60. WERK, E.E., J. MAC GEE, L.J. SHOLITON: Effect of diphenylhydantoin on cortisol metabolism in man. J. clin. Invest. 43 (1964), 1824

61. WOODBURY, D.M.: Role of pharmacological factors in the evaluation of anticonvulsant drugs. Epilepsia 10 (1969), 121

Herrn Professor Dr. med. Helmut C o p e r danke ich für die wertvollen Anregungen und Ratschläge bei der Ausführung der Versuche, seine Umsicht und ständige Bereitschaft zur Diskussion der Schwierigkeiten, die sich theoretisch und praktisch ergaben.

Ebenso gilt mein Dank Fräulein Ina-Maria B r o e r m a n n für ihre technische Assistenz und den übrigen Mitarbeitern des Instituts für ihre praktische Hilfe.